

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**“EVALUACIÓN DEL PAPEL INMUNOMODULADOR DE LA
RESINIFERATOXINA DURANTE LA RESPUESTA INMUNE
PRIMARIA A NIVEL INTESTINAL DE UN MODELO
MURINO INFECTADO CON *Trichinella spiralis*”**

POR

M. C. JOSÉ LUIS MUÑOZ CARRILLO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA**

NOVIEMBRE, 2017

**EVALUACIÓN DEL PAPEL INMUNOMODULADOR DE LA
RESINIFERATOXINA DURANTE LA RESPUESTA INMUNE
PRIMARIA A NIVEL INTESTINAL DE UN MODELO
MURINO INFECTADO CON *Trichinella spiralis***

Comité de Tesis

Dr. Juan Francisco Contreras Cordero
Presidente

Dra. María Porfiria Barrón González
Secretario

Dra. Licet Villarreal Treviño
Vocal

Dra. María Eufemia Morales Rubio
Vocal

Dr. Feliciano Segovia Salinas
Vocal

**EVALUACIÓN DEL PAPEL INMUNOMODULADOR DE LA
RESINIFERATOXINA DURANTE LA RESPUESTA INMUNE
PRIMARIA A NIVEL INTESTINAL DE UN MODELO
MURINO INFECTADO CON *Trichinella spiralis***

Dirección de Tesis

Dr. Juan Francisco Contreras Cordero
Director

Dra. María Alejandra Moreno García
Director Externo

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL)** y a la **Facultad de Ciencias Biológicas (FCB)** por permitirme realizar mis estudios de Doctorado durante el periodo enero-2014 a diciembre-2016.

Al **Laboratorio de Microbiología y Biología Celular** de la **Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas (UACB-UAZ)**, que bajo la dirección de la **Dra. en C. M. Alejandra Moreno García** me brindo el espacio y apoyo para realizar mi trabajo experimental del doctorado.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo económico durante la realización de mi doctorado y estancias nacionales de investigación.

Al **Dr. en C. Mario Morales Vallarta**, quien al inicio de mi doctorado fungió como mi director de tesis de doctorado.

A la **Dra. en C. M. Alejandra Moreno García**, por ser mi directora externa y además por darme la oportunidad de realizar mi trabajo experimental de doctorado en su laboratorio brindándome todo el apoyo y confianza para la realización y culminación del mismo.

Al **Dr. en C. Juan Francisco Contreras**, que después del retiro de Dr. en C. Mario Morales Vallarta, aceptó ser mi director de tesis, por su apoyo y orientación, muchas gracias.

A los miembros de mi **comité de tesis**:

- **Dra. en C. María Porfiria Barrón González**
- **Dra. en C. Licet Villarreal Treviño**
- **Dra. en C. María Eufemia Morales Rubio**
- **Dr. en C. Feliciano Segovia Salinas**

Que estuvieron al pendiente de mi proyecto durante todo el doctorado.

Al **Dr. Sixto Javier Sosa Días** del **Laboratorio de Inmunohistoquímica del Hospital General de Zacatecas** quien nos apoyó durante el trabajo experimental de la tesis de doctorado.

A mis amigos de posgrado la **M. en C. Angélica Leticia de Ávila Elías**, al **Dr. en C. César Iván Romo Sáenz**, a la **M. en C. Fabiola Lizeth Cuellar Guevara**, **M. en C. Priscila Mendoza Flores** y a la **M. en C. Karla Carmelita Pérez Treviño**, muchas gracias con todo mi cariño por su apoyo y amistad durante mi Doctorado.

A mi **Padre el Dr. José Luis Muñoz López** en paz descanse, que también fue apoyo y parte importante de mi proyecto de Doctorado.

Al **Consejo Zacatecano de Ciencia, Tecnología e innovación (COZCyT)**, que en diversas ocasiones me apoyó económicamente para la participación en congresos nacionales e internacionales.

DEDICATORIAS

Esta tesis se la dedico a:

Dios por darme la fuerza y el coraje para lograr esta meta. Gracias por poner en mi camino a personas valiosas que fueron parte importante durante esta travesía y que estuvieron conmigo en todo momento, por tu infinita bondad y amor.

A mi padre (Q.E.P.D.) el **Dr. José Luis Muñoz López** por todo tu amor y apoyo, porque siempre creíste en mí y luchaste a mi lado para lograr este sueño, gracias **PADRE** por todo tu esfuerzo que hoy ha brindado frutos, te dedico esta tesis con todo mi respeto, admiración y amor.

A mi amada esposa **Alejandra Ortiz Bañuelos** y mi amado hijo **Luis Alejandro Muñoz Ortiz** por todo su apoyo, por estar a mi lado en los momentos difíciles, en mis fracasos y éxitos, por enseñarme día a día a ser un mejor ser humano, gracias por ser parte de mi vida, les dedico esta tesis con todo mi amor.

A mi madre **Yolanda** y a mis hermanos **Mireya, Crystal y Gilberto**, por todo su amor y por siempre creer en mí.

A mis suegros **Carlos Ortiz Reveles** y **Rosalba Bañuelos Quesada** y a mis cuñados **Carlos** y **Verónica** por todo su apoyo incondicional, ustedes son parte de este logro, con todo mi amor y respeto para ustedes.

A la **Dra. en C. Alejandra Moreno García** por todo su apoyo incondicional, gracias por siempre entenderme y estar conmigo en los momentos más difíciles y por supuesto en nuestros éxitos, agradezco profundamente su confianza en mi persona y por ser una gran mentora durante todos estos años, todo mi cariño, respeto y admiración para usted, muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|--------------|
| I. LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS..... | xi |
| II. RESUMEN | xvii |
| III. ABSTRACT..... | xviii |
| IV. INTRODUCCIÓN | 1 |
| V. ANTECEDENTES | 3 |
| 5.1. Trichinellosis: Perspectiva actual | 3 |
| 5.2. Ciclo biológico de <i>Trichinella spiralis</i> | 6 |
| 5.3. Antígenos inmunógenos de <i>Trichinella spiralis</i> | 7 |
| 5.3.1. Glicoproteína de 43-kDa | 8 |
| 5.3.2. Glicoproteína de 53-kDa | 8 |
| 5.3.3. Glicoproteína de 45-kDa | 8 |
| 5.4. Respuesta inmune intestinal en la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 9 |
| 5.4.1. Respuesta inmune Th1: Respuesta inflamatoria | 9 |
| 5.4.2. Respuesta Inmune Th2: Expulsión de <i>Trichinella spiralis</i> | 12 |
| 5.5. Tratamiento en la trichinellosis..... | 19 |
| 5.5.1. Glucocorticoides: antiinflamatorios de tipo esteroideo..... | 20 |
| 5.5.2. Resiniferatoxina: nuevo tratamiento antiinflamatorio | 23 |
| VI. JUSTIFICACIÓN | 26 |
| VII. HIPÓTESIS | 27 |
| VIII. OBJETIVOS | 28 |
| 8.1. Objetivo General | 28 |
| 8.2. Objetivos Específicos..... | 28 |
| IX. MATERIALES Y MÉTODOS | 29 |
| 9.1. Tipo de investigación..... | 29 |
| 9.2. Variables de estudio..... | 29 |
| 9.2.1. Variables dependientes..... | 29 |
| 9.2.2. Variables independientes | 29 |
| 9.3. Modelo animal experimental | 30 |
| 9.3.1. Modelo de rata..... | 30 |
| 9.3.2. Modelo de ratón | 30 |

| | |
|--|----|
| 9.4. Infección experimental..... | 31 |
| 9.4.1. Modelo de rata..... | 31 |
| 9.4.2. Modelo de ratón | 31 |
| 9.5. Farmacoterapia..... | 31 |
| 9.5.1. Tratamiento control..... | 31 |
| 9.5.2. Tratamiento experimental | 32 |
| 9.5.3. Tratamiento anestésico..... | 32 |
| 9.6. Obtención de suero | 32 |
| 9.7. Cuantificación de citocinas Th1 en suero | 32 |
| 9.8. Cuantificación de citocinas Th2 en suero | 33 |
| 9.9. Determinación del porcentaje de eosinófilos en sangre..... | 33 |
| 9.10. Determinación del número de eosinófilos en tejido intestinal..... | 34 |
| 9.11. Determinación del número de mastocitos en tejido intestinal | 34 |
| 9.12. Cuantificación de parásitos adultos de <i>T. spiralis</i> en intestino delgado | 35 |
| 9.13. Determinación de la implantación de L1 de <i>T. spiralis</i> en tejido muscular | 35 |
| 9.14. Determinación de la carga parasitaria de <i>T. spiralis</i> en tejido muscular | 36 |
| 9.15. Determinación de la viabilidad de L1 de <i>T. spiralis</i> | 36 |
| 9.16. Infectividad de L1 de <i>T. spiralis</i> : reproducción de ciclo de vida de <i>T. spiralis</i> en ratones BALB/c | 37 |
| X. ASPECTOS ÉTICOS | 38 |
| XI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 39 |
| XII. RESULTADOS | 40 |
| 12.1. Producción de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 40 |
| 12.2. Producción de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 42 |
| 12.3. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en la producción de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 44 |
| 12.4. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en la producción de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 48 |
| 12.5. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el porcentaje de eosinófilos en sangre durante la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 51 |
| 12.6. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de eosinófilos en intestino delgado en la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 53 |

| | |
|--|-----|
| 12.7. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de mastocitos en intestino delgado en la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 56 |
| 12.8. Efecto de la resiniferatoxina sobre la expulsión de parásitos adultos de <i>Trichinella spiralis</i> del intestino delgado durante la fase intestinal de la infección | 57 |
| 12.9. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la fase muscular de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 60 |
| 12.10. Efecto de la resiniferatoxina en la viabilidad de las L1 de <i>Trichinella spiralis</i> | 63 |
| 12.11. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la infectividad de las L1 de <i>Trichinella spiralis</i> en ratones BALB/c | 63 |
| XIII. DISCUSIÓN | 65 |
| XIV. CONCLUSIONES | 78 |
| XV. PERSPECTIVAS | 79 |
| XVI. BIBLIOGRAFÍA | 80 |
| XVII. RESUMEN BIOGRÁFICO | 110 |
| 17.1. Formación académica | 110 |
| 17.2. Publicaciones derivadas de la Tesis de Doctorado: | 110 |
| 17.3. Publicaciones secundarias relacionadas al Doctorado: | 111 |
| 17.4. Distinciones y premios durante estudios de Doctorado:..... | 112 |
| 17.5. Estancias Nacionales de Investigación durante el Doctorado..... | 113 |
| 17.6. Cursos Nacionales e Internacionales y Diplomados durante el Doctorado. | 113 |
| 17.7. Participación y Asistencia en Congresos Nacionales e Internacionales. | 114 |
| 17.8. Experiencia Profesional y Gestión Académica..... | 117 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Distribución mundial de <i>Trichinella spp.</i> | 4 |
| Figura 2. Distribución de <i>Trichinella spiralis</i> en México..... | 5 |
| Figura 3. Ciclo biológico de <i>Trichinella spiralis</i> | 6 |
| Figura 4. Respuesta inmune durante la fase intestinal de la infección por <i>Trichinella spiralis</i> | 12 |
| Figura 5. Regulación génica de los glucocorticoides..... | 21 |
| Figura 6. Efecto antiinflamatorio de los glucocorticoides. | 22 |
| Figura 7. Actividad antiinflamatoria de la resiniferatoxina en modelos <i>in vitro</i> | 24 |
| Figura 8. Actividad antiinflamatoria de la resiniferatoxina en modelos <i>in vivo</i> | 25 |
| Figura 9. Liberación de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por <i>T. spiralis</i> | 40 |
| Figura 10. Producción de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por <i>T. spiralis</i> | 41 |
| Figura 11. Liberación de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por <i>T. spiralis</i> | 42 |
| Figura 12. Producción de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por <i>T. spiralis</i> | 43 |
| Figura 13. Niveles en suero de IL-12 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina..... | 44 |
| Figura 14. Niveles en suero de INF- γ en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina..... | 45 |
| Figura 15. Niveles en suero de IL-1 β en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina..... | 46 |
| Figura 16. Niveles en suero de TNF- α en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina..... | 47 |
| Figura 17. Niveles en suero de IL-4 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina..... | 48 |
| Figura 18. Niveles en suero de IL-10 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina..... | 50 |
| Figura 19. Niveles en suero de IL-13 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina..... | 51 |
| Figura 20. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre el porcentaje de eosinófilos en sangre..... | 52 |

| | |
|---|----|
| Figura 21. Número de eosinófilos en intestino delgado durante la fase intestinal de la infección por <i>T. spiralis</i> | 53 |
| Figura 22. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de eosinófilos en intestino delgado. | 54 |
| Figura 23. Número de mastocitos en intestino delgado durante la fase intestinal de la infección por <i>T. spiralis</i> | 55 |
| Figura 24. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de mastocitos en intestino delgado. | 56 |
| Figura 25. Número de parásitos adultos de <i>T. spiralis</i> en intestino delgado durante la fase intestinal de la infección. | 58 |
| Figura 26. Efecto de la resiniferatoxina sobre la expulsión de parásitos adultos de <i>T. spiralis</i> | 59 |
| Figura 27. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la implantación de las L1 de <i>T. spiralis</i> en tejido muscular. | 61 |
| Figura 28. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la carga parasitaria de <i>T. spiralis</i> | 62 |
| Figura 29. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre infectividad de las L1 de <i>T. spiralis</i> en ratones BALB/c. | 64 |
| Figura 30. Modulación de las respuestas inmunes Th1/Th2 por parte de la resiniferatoxina frente a la infección por <i>T. spiralis</i> | 77 |

I. LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

A

| | |
|--------|--|
| ACTH: | Hormona adrenocorticotropa. |
| ADN: | Ácido desoxirribonucleico. |
| ANOVA: | Análisis de Variancia. |
| AP-1: | Proteína activadora-1. |
| ARF: | Insuficiencia renal isquémica aguda, por sus siglas en inglés. |
| ARNm: | Ácido ribonucleico mensajero. |

C

| | |
|--------------------|--|
| CD4 ⁺ : | Cúmulo de diferenciación 4 (<i>cluster of cuadruple differentiation</i> , por sus siglas en inglés), es una glicoproteína monomérica de 59-kDa, al cual contiene cuatro dominios (D1-D4) de tipo inmunoglobulinas. Se expresa en la superficie de los linfocitos T. |
| CITsp: | Grupos control infectados con <i>T. spiralis</i> , del 1 al 5. |
| CN: | Célula nodriza de <i>T. spiralis</i> . |
| COX-2: | Ciclooxigenasa-2 inducible. |
| cPLA2: | Fosfolipasa A2 Inducible, por sus siglas en inglés. |
| CS: | Grupo control sano de ratas. |
| CS-RTX: | Grupo control sano de ratas tratadas con resiniferatoxina. |

D

| | |
|-------|----------------------|
| D.E.: | Desviación estándar. |
| DC: | Células dendríticas. |
| DEX: | Dexametasona. |

E

| | |
|-------------------------|--------------------------------|
| <i>E. coli</i> : | <i>Escherichia coli</i> . |
| <i>E. histolytica</i> : | <i>Entamoeba histolytica</i> . |

| | |
|--------|--|
| E/S: | Productos de excreción-secreción de <i>T. spiralis</i> . |
| ECP: | Proteína catiónica eosinofílica. |
| EDN: | Neurotoxina derivada de eosinófilos. |
| ELISA: | Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, por sus siglas en inglés. |
| Eos: | Eosinófilos. |
| %Eos: | Porcentaje de eosinófilos. |
| EPO: | Eosinófilo peroxidasa. |
| EPTA: | Enfermedad parasitaria transmitida por alimentos. |

F

| | |
|---------|--|
| FAO: | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, por sus siglas en inglés. |
| FcεRI: | Receptor de alta afinidad para IgE. |
| FcεRII: | Receptor de baja afinidad a IgE. |

G

| | |
|---------|--|
| GC: | Glucocorticoides. |
| GI: | Gastrointestinales. |
| GM-SCF: | Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos. |
| GR: | Receptor de glucocorticoide. |
| GRE: | Elementos de respuesta a glucocorticoides. |

H

| | |
|--------|---|
| HA: | Hembra adulta de <i>T. spiralis</i> . |
| HMC: | Mastocitos de pulmón humano 1 |
| HMC-1: | Línea celular de mastocitos leucémicos humanos 1. |
| HSPs: | Proteínas chaperonas de shock térmico -90, -70, -p23. |

I

| | |
|--------------------------|--|
| I κ B- α : | Inhibidor de NF- κ B. |
| i.p.: | vía intraperitoneal. |
| Ig: | Inmunoglobulina: clases E, G ₄ . |
| IL: | Interleucina -1 β , -1 α , -4, -5, -6, -8, -10, -12, -13. |
| IL-10R: | Receptor de la IL-10. |
| IL-12p35: | Subunidad menor de la IL-12. |
| IL-12p40: | Subunidad mayor de la IL-12. |
| IL-12R: | Receptor de la IL-12. |
| IL-4R α : | Subunidad α del receptor de interleucina 4. |
| INF: | Interferón - α , - β , - γ . |
| iNOS: | Óxido nítrico sintetasa inducible. |

J

| | |
|-----------|--|
| Jak-STAT: | Janus-cinasas-transductores de la señal y activadores de la transcripción. |
|-----------|--|

K

| | |
|------|--|
| kDa: | KiloDaltones. Dalton: es una unidad de masa y se define como la doceava parte (1/12) de la masa de un átomo. |
| Kg: | Kilogramos. |
| KLH: | Keyhole limpet, hemocianina de la lapa californiana. |

L

| | |
|--------------------|------------------------------|
| L1: | Larva infectante. |
| LPS: | Lipopolisacárido. |
| LRN: | Larva recién nacida. |
| LTB ₄ : | Leucotrieno-B ₄ . |
| LTC ₄ : | Leucotrieno-C ₄ . |

M

| | |
|-------------------|--|
| M: | Molar. |
| MA: | Macho adulto. |
| MAPK: | Quinasas activadas por mitógenos. |
| Mast: | Mastocitos. |
| MBP: | Proteína básica mayor. |
| mg: | Miligramos. |
| MHC: | Complejo mayor de histocompatibilidad I y II. |
| MKP-1: | Quinasa fosfatasa-1 activada por mitógenos. |
| mL: | Mililitro. |
| ML-1a: | Línea humana de células mielomonoblásticas leucémicas. |
| μg: | Microgramos. |
| μL: | Microlitro. |
| μm: | Micrómetro. |
| μm ² : | Micrómetro cuadrado. |

N

| | |
|--------|--------------------|
| NF-κB: | Factor Nuclear κB. |
| NO: | Óxido Nítrico. |

P

| | |
|--------------------|---|
| p.i.: | Post-infección. |
| PAF: | Factor activador de plaquetas. |
| PBS: | Buffer salino de fosfatos. |
| pg: | Picogramos. |
| PGE ₂ : | Prostaglandina E ₂ . |
| pH: | Potencia de hidrogeno. |
| PKC: | Proteína quinasa C. |
| PMA: | Miristato acetato de forbol. |
| PRRs: | Receptores de reconocimiento de patrones. |

R

| | |
|-----------|--|
| RAW264.7: | Línea celular de ratón de monocitos-macrófagos leucémicos. |
| rCITsp: | Grupo de ratones control infectado con <i>T. spiralis</i> |
| rTsp-DEX: | Grupos de ratones control (del 1 al 4) infectados con L1 de <i>T. spiralis</i> previamente tratadas con DEX. |
| rTsp-RTX: | Grupos de ratones control (del 1 al 4) infectados con L1 de <i>T. spiralis</i> previamente tratadas con RTX. |
| RTX: | Resiniferatoxina. |

S

| | |
|----------|---|
| SAGARPA: | Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. |
| SCF: | Factor de células madre. |
| SFP: | Súper familia de proteínas del receptor del factor de necrosis tumoral. |
| STAT: | Transductor de señal y activador de la transcripción-1, 3, 5 y 6. |

T

| | |
|----------------------|--|
| <i>T. gondii</i> : | <i>Toxoplasma gondii</i> . |
| <i>T. solium</i> : | <i>Taenia solium</i> . |
| <i>T. spiralis</i> : | <i>Trichinella spiralis</i> . |
| TGF: | Factor de crecimiento transformante α/β . |
| Th: | Linfocito T colaborador (<i>T helper</i> , por sus siglas en ingles). |
| TLR: | Receptores Toll-like. |
| TNFR1: | Receptor 1 de TNF. |
| TNF- α : | Factor de necrosis tumoral α . |
| TRPV1: | Receptor de potencial transitorio vanilloide 1. |
| TSL-1: | Antígenos de <i>T. spiralis</i> larvae group-1. |

Tsp-DEX: Grupos de ratas control infectados con *T. spiralis* y tratados con diferentes dosis de DEX, del 1 al 4, sacrificados en fase intestinal (FI) y fase muscular (FM).

Tsp-RTX: Grupos de ratas control infectados con *T. spiralis* y tratados con diferentes dosis de RTX, del 1 al 4, sacrificados en fase intestinal (FI) y fase muscular (FM).

U

UAID: Unidad de Área de Intestino Delgado.

UV: Radiación ultravioleta.

V

VCAM-1: Molécula 1 de adhesión de células vasculares.

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular.

W

WHO: World Health Organization, por sus siglas en inglés.

II. RESUMEN

La respuesta inmune contra *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) a nivel intestinal depende de las células T-CD4⁺, las cuales pueden suprimir o promover la respuesta inflamatoria mediante la síntesis de diversas citocinas, polarizando de manera inicial a una respuesta inmune de tipo Th (helper)-1 y posteriormente de tipo Th2, favoreciendo el desarrollo de la inmunopatología intestinal. En este contexto, los glucocorticoides (GC) son la farmacoterapia para la respuesta inflamatoria intestinal en la trichinellosis. Sin embargo, su uso terapéutico está limitado, ya que estudios han mostrado que el tratamiento con GC suprime el sistema inmune del hospedero, favoreciendo la infección por *T. spiralis*. En la búsqueda de nuevas estrategias farmacológicas que inhiban la respuesta inmune Th1 (proinflamatoria) y ayuden al hospedero contra la infección, estudios recientes mostraron que la resiniferatoxina (RTX) tuvo actividad antiinflamatoria, la cual disminuyó la producción del factor de necrosis tumoral (TNF)- α , prostaglandina (PG)-E₂ y óxido nítrico (NO), así como el número de eosinófilos en sangre, asociado con la disminución de la patología intestinal y carga parasitaria muscular. Con base a estos resultados el objetivo de esta investigación fue evaluar si la RTX modula las respuestas inmunes Th1/Th2, protegiendo al hospedero frente a la infección por *T. spiralis*. Durante la fase intestinal de la infección se determinaron los niveles de citocinas Th1, como la interleucina (IL)-12, IL-1 β , interferón (INF)- γ y TNF- α , y citocinas Th2, como la IL-4, IL-10 e IL-13. Así mismo, se determinó el número de eosinófilos en sangre, eosinofilia y mastocitosis intestinal, y se evaluó la expulsión intestinal de adultos de *T. spiralis*. En fase muscular se determinó la implantación, carga parasitaria y viabilidad de *T. spiralis*. Como resultado, el tratamiento con RTX mostró un efecto modulador, regulando a la baja los niveles de citocinas Th1, favoreciendo la síntesis de citocinas Th2, con una disminución del número de eosinófilos en sangre y tejido intestinal, con un aumento en la mastocitosis intestinal, favoreciendo la expulsión intestinal de *T. spiralis* con la consecuente disminución de carga parasitaria y afectado la viabilidad de *T. spiralis*. Estos resultados demuestran que la RTX es capaz de modular las respuestas inmunes Th1/Th2, contribuyendo a la protección del hospedero frente a la infección por *T. spiralis*, lo cual coloca a la RTX como una nueva droga potencial para la modulación de la respuesta inmune.

III. ABSTRACT

The immune response to *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) at the intestinal level depends on the CD4⁺ T cells, which can both suppress or promote inflammatory response through the synthesis of diverse cytokines, initially polarizing a type Th (helper)-1 immune response and later type Th2, favoring the development of intestinal immunopathology. In this context, the glucocorticoids (GC) are the pharmacotherapy for the intestinal inflammatory response in trichinellosis. However, its therapeutic use is limited, since studies have shown that GC treatment suppresses the host immune system, favoring *T. spiralis* infection. In the search for novel pharmacological strategies that inhibit the Th1 immune response (proinflammatory) and assist the host against infection, recent studies showed that resiniferatoxin (RTX) had anti-inflammatory activity, which decreased the production of tumor necrosis factor (TNF)- α , prostaglandin (PG)-E₂ and nitric oxide (NO), as well as the number of eosinophils in the blood, associated with decreased intestinal pathology and parasite muscle burden. Based on these results, the objective of this research was to evaluate whether RTX modulates both Th1/Th2 immune responses, protecting the host against *T. spiralis* infection. During the intestinal phase of infection, the levels of Th1 cytokines, such as interleukin (IL)-12, IL-1 β , interferon (INF)- γ and TNF- α and Th2 cytokines, such as IL-4, IL-10 and IL-13 were determined. Likewise, the number of eosinophils in blood, eosinophilia and intestinal mastocytosis were determined, and the intestinal expulsion of *T. spiralis* was evaluated. In the muscular phase, the implantation, parasitic burden and viability of *T. spiralis* were determined. As results, RTX treatment showed a modulatory effect, downregulating Th1 cytokine levels, favoring the synthesis of Th2 cytokines, with a decrease in the number of eosinophils in both blood and intestinal tissue, with an increase in intestinal mastocytosis, favoring the intestinal *T. spiralis* expulsion, with the consequent decrease of the parasite burden and affected the viability of *T. spiralis*. These results demonstrate that RTX is capable to modulate both Th1/Th2 immune responses, contributing to host protection against *T. spiralis* infection, which places RTX as a novel potential drug for the modulation of the immune response.

IV. INTRODUCCIÓN

Cerca de una tercera parte de la población mundial está infectada con parásitos nematodos, lo que actualmente los hace uno de los agentes infecciosos de mayor prevalencia en el mundo, responsables de muchas enfermedades tanto en humanos como en animales (Hotez et al. 2008). Con la finalidad de mantener su ciclo de vida, los parásitos nematodos, establecen infecciones crónicas asociadas con una significativa regulación a la baja de la respuesta inmune (Maizels y Yazdanbakhsh 2003; Elliott et al. 2007; Van Die y Cummings 2010), causando infecciones crónicas que impactan de manera importante en la salud del hospedero (Zaph et al. 2014).

La trichinellosis es una enfermedad parasitaria zoonótica-cosmopolita causada por los parásitos nematodos del género *Trichinella* (Bruschi 2012; Krivokapich et al. 2012). En el humano, la trichinellosis se adquiere por la ingestión de carne infectada con larvas infectantes (L1) de *T. spiralis* (Murrell 2016). Estas L1 invaden los enterocitos del intestino delgado del hospedero, donde maduran a gusanos adultos hembra y macho, para después producir larvas recién nacidas (LRN), dando lugar a la fase intestinal de la infección (Theodoropoulos y Petrakos 2010). Posteriormente, estas LRN invaden las células musculares para desarrollarse nuevamente a L1, dando lugar a la fase muscular de la infección, y así completar su ciclo de vida (Wu et al. 2008). Debido a que todo el ciclo de vida de *T. spiralis* se completa en un solo hospedero, la infección representa un gran desafío para el sistema inmune, el cual está bajo la influencia de los componentes antigénicos del parásito en cada etapa de su ciclo de vida (Nagano et al. 2009), creando un ambiente que favorece su supervivencia, a través de la modulación de la respuesta inmune (Gruden-Movsesijan et al. 2011; Ilic et al. 2011).

La infección por *T. spiralis* se caracteriza por la inducción de una respuesta inmune temprana de tipo Th1 al inicio de la fase intestinal, con el subsecuente predominio de una respuesta inmune de tipo Th2, lo que resulta en una mezcla de ambas respuestas inmunes Th1/Th2 (Ilic et al. 2012; Ashour 2013), dependientes de las células T-CD4⁺ (Bruschi y Chiumiento 2012). El incremento de la síntesis de citocinas Th1 (proinflamatorias) (Stadnyk y Kearsey 1996; Ishikawa 1998), junto con la hiperplasia de mastocitos y

eosinófilos (Appleton y Romaris 2001), resultado de la respuesta inmune Th2, favorecen la evolución de la respuesta inflamatoria, desarrollando la inmunopatología intestinal, lo que perjudica al hospedero (Lawrence et al. 1998, 2000).

Con la finalidad de disminuir la respuesta inflamatoria y a su vez la inmunopatología, ambas asociadas a la infección, la farmacoterapia utilizada en la trichinellosis es a través del uso de fármacos antiinflamatorios de tipo esteroideo, como los GC (Dupouy-Camet et al. 2002; Shimoni et al. 2007). Sin embargo, a pesar de ser potentes fármacos antiinflamatorios, el uso terapéutico de los GC en la trichinellosis está limitado, debido a que estudios han mostrado que el tratamiento de la respuesta inflamatoria con GC suprime el sistema inmune del hospedero, favoreciendo la infección por *T. spiralis* (Bozic 2000).

Ante esta problemática terapéutica, surge la necesidad de investigar nuevas estrategias farmacológicas que modulen ambas respuestas inmunes Th1/Th2, de manera que disminuyan la respuesta inflamatoria y la inmunopatología intestinal, protegiendo de este modo al hospedero frente a la infección por *T. spiralis*. Por lo que el propósito de esta investigación fue evaluar el potencial terapéutico de la RTX, como modulador de las respuestas inmunes Th1/Th2 en la fase intestinal, de manera que proteja al hospedero frente a la infección por *T. spiralis*, ya que estudios previos mostraron que la RTX tuvo actividad antiinflamatoria (Singh et al. 1996; Chen et al. 2003; Ueda et al. 2008; Gutiérrez-Coronado et al. 2012), asociada con la disminución de la patología intestinal y carga parasitaria muscular de *T. spiralis* (Muñoz-Carrillo et al. 2017).

V. ANTECEDENTES

5.1. Trichinellosis: Perspectiva actual

Actualmente, más de mil millones de personas están infectadas por parásitos nematodos gastrointestinales (GI) en todo el mundo (Grencis et al. 2014), haciéndolos uno de los agentes infecciosos más prevalentes, responsables de muchas enfermedades tanto en animales como en humanos (McSorley y Maizels 2012), siendo así un problema de salud mundial (Maizels et al. 2012). La investigación en estas infecciones parasitarias no sólo es de relevancia directa para la salud humana y animal, sino también porque presentan un reto constante e importante para el sistema inmune del hospedero, especialmente a través del tracto intestinal (Zaph et al. 2014), ya que, tanto en humanos como en animales, los nematodos-GI establecen infecciones crónicas asociadas con una significativa regulación a la baja de la respuesta inmune (Maizels y Yazdanbakhsh 2003; Elliott et al. 2007).

Las especies del parásito nematodo del género *Trichinella* causan la enfermedad denominada trichinellosis (Bruschi y Chiumiento 2012), la cual es una enfermedad parasitaria zoonótica, ya que resulta del consumo de carne cruda o poco cocida de animales infectados (Laverde et al. 2009). Hasta ahora, se han descrito 12 especies, las cuales se dividen en dos clados: 1) el clado de las especies encapsuladas (*T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. nelsoni*, *T. murrelli* y *T. patagoniensis*, T6, T8 y T9); y 2) el clado de las especies no encapsuladas (*T. pseudospirallis*, *T. papuae* y *T. zimbawensis*) (Pozio 2007; Krivokapich et al. 2012; Pozio y Zarlenga 2013).

La trichinellosis es una enfermedad parasitaria que se caracteriza por tener una amplia gama de hospederos y distribución geográfica (Gottstein et al. 2009; Bruschi 2012). Según la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés) hasta el año del 2009 se registraron más de 65, 000 casos de trichinellosis en el mundo, con más de 42 casos fatales (Berger 2017a) en las regiones de América, África, sur de Asia y Europa (Pozio y Zarlenga 2013; Pozio 2014), debido a su alta infectividad (Figura 1). Sin embargo, se estima que actualmente 11 millones de humanos en el mundo están infectados por las especies de *Trichinella*, principalmente por *T. spiralis* (Berger 2017a).

Distribución Mundial de la Trichinellosis

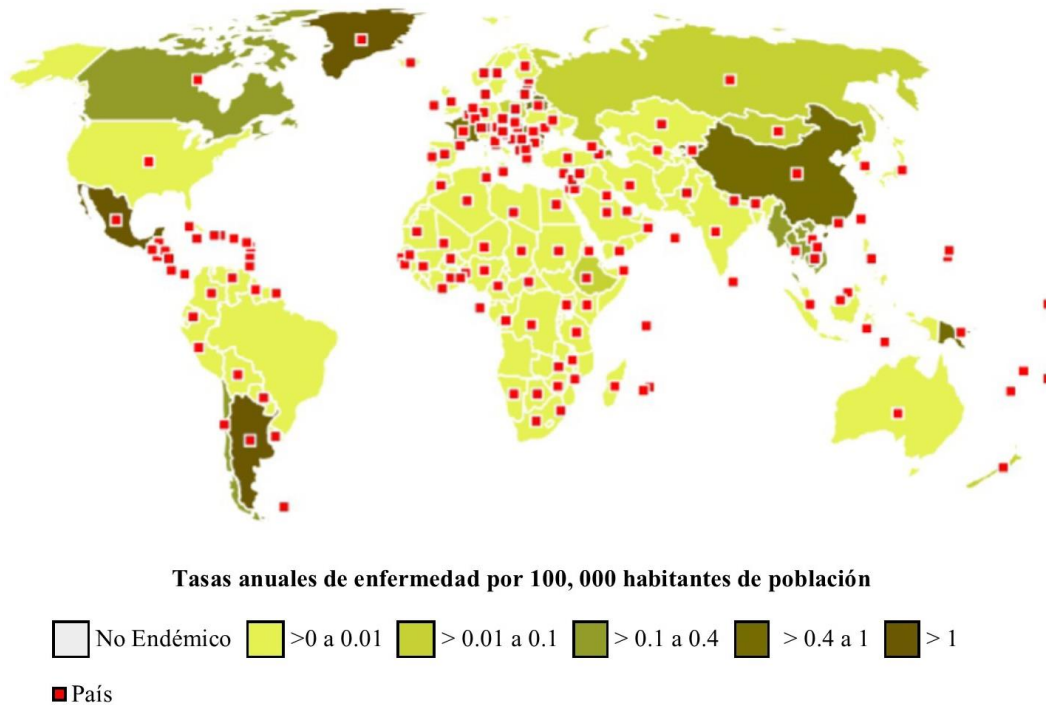


Figura 1. Distribución mundial de *Trichinella* spp. Casos reportados (más de 65, 000) a nivel mundial de trichinellosis causada por las especies del parásito del género *Trichinella*. Figura traducida del inglés al español (Berger 2017a).

En julio del año 2014 la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) junto con la WHO, publicaron una lista con los 10 principales parásitos transmitidos por los alimentos, que afectan a la salud de millones de personas cada año en todo el mundo, infectando tejidos musculares y órganos, causando serios problemas de salud. *T. spiralis* ocupó el séptimo lugar, por debajo de parásitos de importancia médica como *Taenia solium* (*T. solium*), *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) y *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), por lo cual, actualmente la trichinellosis sigue siendo una enfermedad parasitaria transmitida por alimentos (EPTA) de gran importancia médica a nivel mundial (FAO/WHO 2014).

En México la trichinellosis humana se produce con frecuencia a partir del consumo de carne de cerdo cruda o mal cocida (Pozio 2007; Chávez et al. 2011). En general en México se tiene poco conocimiento de la enfermedad, y en los estudios epidemiológicos existentes

por histopatología post mortem de humanos, se han observado prevalencias del 50%, mientras que en hospitales es de 4 al 15% (SINAVE 2016).

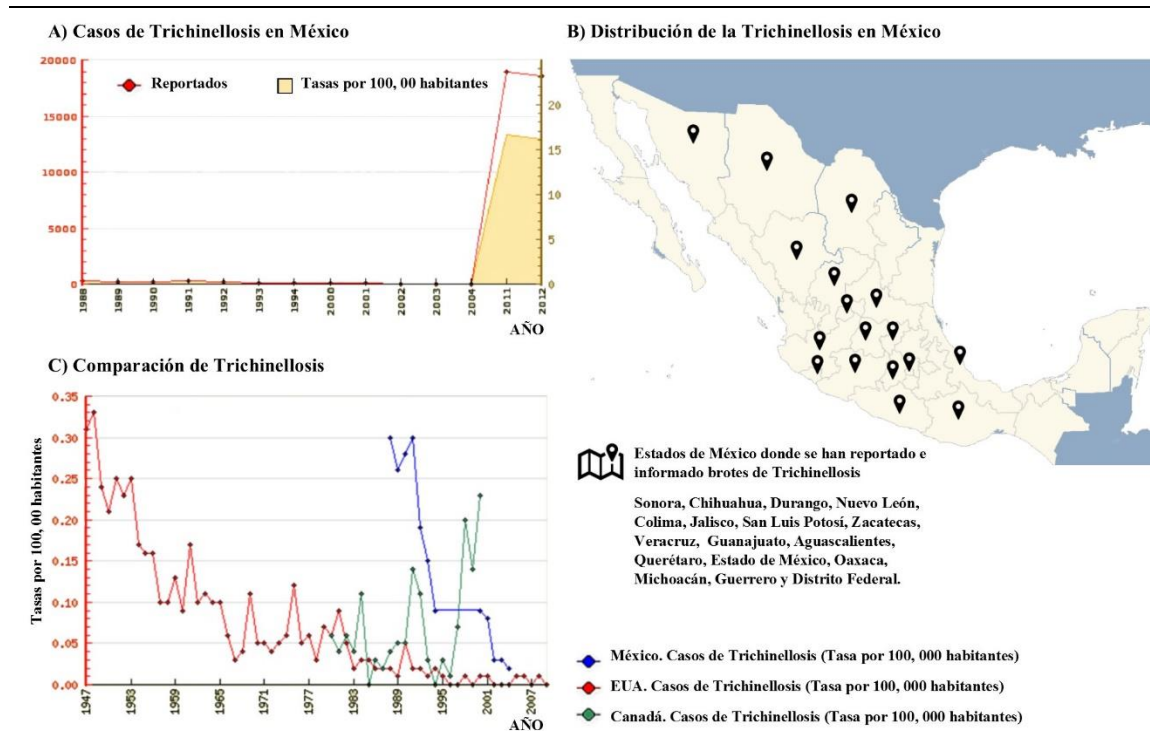


Figura 2. Distribución de *Trichinella spiralis* en México. A) Número de casos reportados e informados de trichinellosis en México (Tasa por cada 100,000 habitantes, del periodo de 1988 al 2012). B) Distribución geográfica de brotes registrados de trichinellosis en al menos 17 Estados del País. C) Comparación de la trichinellosis entre México, Estados Unidos de América y Canadá del periodo de 1947 al 2007. Figura elaborada por Muñoz-Carrillo José Luis. Figuras A y C traducidas del inglés al español (Berger 2010, 2017b; SINAVE 2016; Ortega-Pierres 2017).

Desde 1952 hasta la fecha se han reportado más de 800 casos de trichinellosis humana en por lo menos 17 estados del país como Sonora, Chihuahua, Durango, Nuevo León, Colima, Jalisco, San Luis Potosí, Zacatecas, Veracruz, Guanajuato, Aguascalientes, Querétaro, Estado de México, Oaxaca, Michoacán, Guerrero y el Distrito Federal (Figura 2AB) (Berger 2017b; SINAVE 2016; Ortega-Pierres 2017).

En los últimos años, las tasas reportadas de trichinellosis en México se han reducido a niveles que son comparables a los de Estados Unidos. De hecho, Canadá ahora reporta una de las tasas más altas de América del Norte (Figura 2C) (Berger 2010).

5.2. Ciclo biológico de *Trichinella spiralis*

James Paget, estudiante de medicina en el hospital de San Bartolomé en Londres, Inglaterra, observó un parásito en el músculo del diafragma de un paciente italiano de 51 años que había muerto por tuberculosis. Posteriormente, el zoólogo británico Richard Owen en 1835 estudió porciones de tejido muscular del caso Paget y le dio el nombre de *T. spiralis* (Owen 1835). Los parásitos adultos de *T. spiralis* fueron descubiertos por Rudolf Virchow en 1859 y Friedrich Zenker en 1860, quien finalmente reconoció la importancia clínica de la infección y llegó a la conclusión de que los humanos se infectan al comer carne cruda infectada con el parásito (Cox 2002).

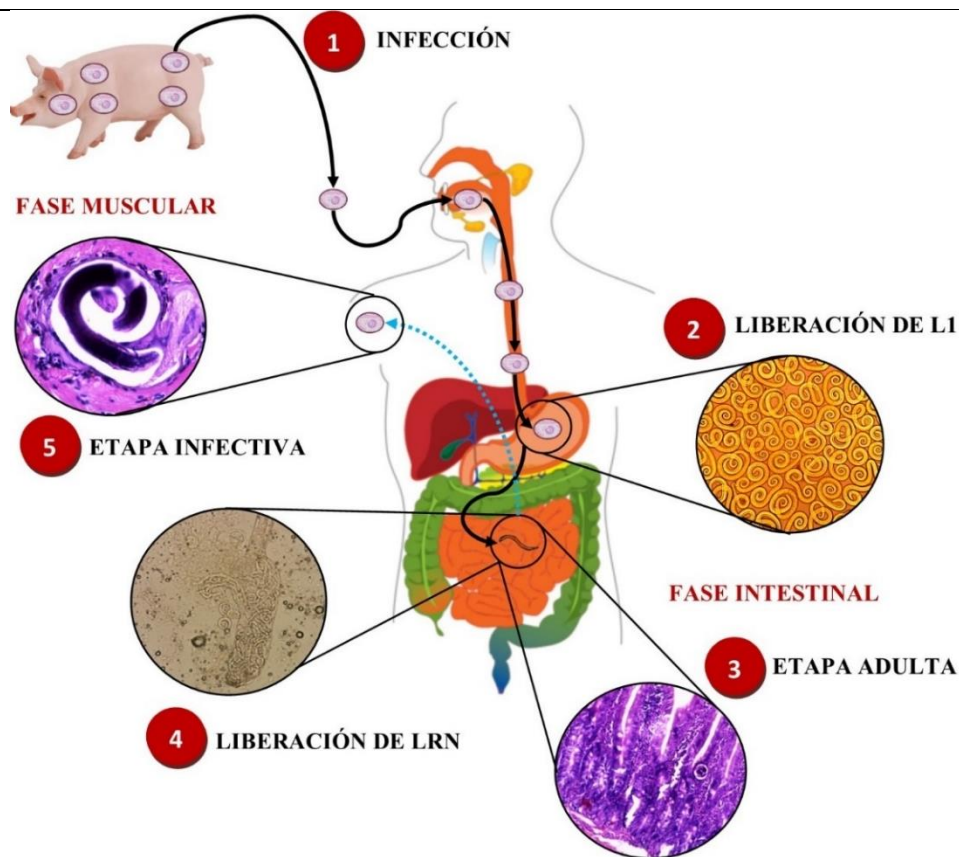


Figura 3. Ciclo biológico de *Trichinella spiralis*. 1) Ingestión de carne infectada con L1. **Fase intestinal.** 2) Liberación de las L1 en el estómago. 3) Migración de las L1 al intestino delgado y maduración a parásitos AD hembra y macho. 4) Reproducción y liberación de NBL. **Fase muscular.** 5) Migración de las NBL e invasión de células musculoesqueléticas para desarrollarse nuevamente a un estadio de L1 formando la CN. Figura elaborada por Muñoz-Carrillo José Luis, referencias citadas en el texto.

La principal característica de la epidemiología de *T. spiralis* es su transmisión obligatoria por ingestión de carne infectada (Bruschi y Murrell 2002; Murrell 2016). *T. spiralis* es un parásito nematodo, que cuando infecta a un hospedero, su ciclo biológico inicia por la liberación de L1 de *T. spiralis* en el estómago, las cuales después invaden el intestino delgado. De 10 a 30 horas post-infección (p.i.) las L1 van a madurar a parásitos adultos hembra y macho para después, aproximadamente 1 semana p.i., producir las LRN (Theodoropoulos y Petrakos 2010), dando lugar a la fase intestinal de la infección (Moreno et al. 2009). Posteriormente, estas LRN migraran principalmente por torrente sanguíneo invadiendo las células musculoesqueléticas para desarrollarse nuevamente a un estadio de L1 formando la célula nodriza (CN), aproximadamente de 21 a 32 días p.i., dando lugar a la fase muscular de la infección, y así completar su ciclo de vida (Figura 3) (Wu et al. 2008; Moreno et al. 2012).

5.3. Antígenos inmunógenos de *Trichinella spiralis*

La infección con *T. spiralis* representa un gran desafío para el sistema inmune del hospedero, ya que está bajo la influencia de los componentes antigénicos que se producen en cada una de las etapas del ciclo biológico del parásito (Gruden-Movsesijan et al. 2011). Estos antígenos son de particular interés, ya que inducen una respuesta inmune protectora y son útiles en el diagnóstico en la trichinellosis tanto en humanos como en animales. Estos antígenos han sido nombrados *T. spiralis larvae group* (TSL)-1, y son liberados (secretados y/o excretados) por las L1 en el epitelio intestinal, al inicio de la fase intestinal, y de nuevo en la fase muscular de la infección al formarse el complejo L1-CN (Ortega-Pierres et al. 1996; Appleton y Romaris 2001; Yépez-Mulia et al. 2007).

Los antígenos TSL-1 son glicoproteínas de 43, 53 y 45 kiloDaltones (kDa) de los productos de excreción-secreción (E/S) de las L1 de *T. spiralis* (Bolás-Fernandez y Corral 2006), los cuales son blancos de anticuerpos que median la inmunidad protectora contra *T. spiralis*, que reconocen sus residuos de tigelosa (Reason et al. 1994; Yépez-Mulia et al. 2007; Nagano et al. 2009). Técnicas inmunohistoquímicas han detectado antígenos TSL-1 en la superficie de las L1, en los esticocitos- α y en los productos de E/S (Appleton y Romaris 2001).

5.3.1. Glicoproteína de 43-kDa

Gold et al. aislaron la glicoproteína de 43-kDa de los productos de E/S de las L1 de *T. spiralis* (Gold et al. 1990). Posteriormente, Su et al. caracterizaron, clonaron y expresaron esta glicoproteína de 43-kDa en *Escherichia coli* (*E. coli*) (Su et al. 1991). Se cree que la glicoproteína de 43-kDa puede ser la responsable de la formación de la CN, después de la entrada de las LRN a las células musculares, ya que el gen que codifica esta proteína de 43-kDa es expresado antes y después de la formación de la CN, pero no en parásitos adultos de *T. spiralis* (Wu et al. 2002). Además, se ha observado que diversas isoformas del gen de 43-kDa han sido expresadas por L1 inmaduras (Mitreva et al. 2004). Así mismo, se demostró que la producción del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) transcrito del antígeno de 43-kDa se limita a la fase muscular en L1, dentro del esticocito- α . También se ha detectado en el núcleo y plasma de la CN, por lo cual, se cree que está involucrado en su formación (Yépez-Mulia et al. 2007; Nagano et al. 2009).

5.3.2. Glicoproteína de 53-kDa

Zarlenga y Gamble identificaron los genes que codificaban la glicoproteína de 53-kDa de *T. spiralis*, y posteriormente elucidaron la secuencia completa y caracterizaron el gen (Zarlenga y Gamble 1990, 1995). Este gen que codifica la glicoproteína de 53-kDa de *T. spiralis* es expresado por las L1 post-CN y en parásitos adultos de *T. spiralis*, pero no por la larva pre-CN ni por las LRN (Wu et al. 2002; Romarís et al. 2002). Esta proteína está presente en los β -gránulos, pero no los α -gránulos de las L1, después de la formación de la CN (Yépez-Mulia et al. 2007). En parásitos adultos de *T. spiralis*, esta proteína está presente dentro de los gránulos de esticosoma de tipo I. Estos datos indican que la proteína de 53-kDa no es responsable de la transformación de la célula muscular ni de la formación de la CN, pero juega algún papel en la comunicación del parasitismo y la modulación de la respuesta inmune del hospedero (Nagano et al. 2009).

5.3.3. Glicoproteína de 45-kDa

Arasu et al. revelaron que la proteína secretada de 45-kDa es una glicoproteína que contiene tivelosa y está presente en los β - y α -esticosomas de los órganos secretores de las

L1. El gen que codifica esta proteína pertenece a una familia de genes presentes en un ácido desoxirribonucleico (ADN) simple que codifica a diversas proteínas de un rango de 40-50 kDa (Arasu et al. 1994).

Los antígenos TSL-1 se han asociado al desarrollo de la respuesta inflamatoria aguda, durante la fase intestinal de la infección, mientras que más tarde, en la fase muscular, mantienen una relación cruzada con el hospedero (Beiting et al. 2007; Chávez et al. 2017).

5.4. Respuesta inmune intestinal en la infección por *Trichinella spiralis*

La primera barrera de defensa durante la infección intestinal por nematodos-GI es la capa de moco secretada por el intestino del hospedero, ya sea en una fase larvaria durante el proceso infeccioso temprano o como parásitos adultos durante la fase reproductiva de la infección. Así, los nematodos-GI interactuarán con la capa de moco y en muchos casos tendrán que atravesarla para llegar a la capa epitelial y así prosperar y reproducirse dentro de ella (Grencis et al. 2014).

El inicio de la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* se caracteriza por la inducción de una respuesta inmune temprana de tipo Th1, con el subsecuente predominio de una respuesta inmune de tipo Th2, lo que resulta en una mezcla de ambas respuestas inmunes Th1/Th2 (Ilic et al. 2012; Ashour 2013), dependientes de las células T-CD4⁺ (Bruschi y Chiumiento 2012). Estas células T-CD4⁺ pueden funcionar como células presentadoras de antígeno y tener un papel clave en el establecimiento del entorno de citocinas en el ambiente intestinal, dirigiendo de este modo, su diferenciación ya sea suprimiendo o favoreciendo la respuesta inflamatoria a nivel intestinal, la cual es crucial para la expulsión y eliminación del parásito (Cieza et al. 2012).

5.4.1. Respuesta inmune Th1: Respuesta inflamatoria

Durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* la polarización de las células T hacia una respuesta inmune celular de tipo Th1 depende del tipo de señal derivada de las células dendríticas. Las células dendríticas representan de manera importante la unión entre la inmunidad innata y adaptativa, las cuales juegan un papel importante durante la

respuesta inmune contra parásitos (Sher et al. 2003; Koenderman et al. 2014). Los antígenos TSL-1 inducen la maduración de células dendríticas, lo que conduce a la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II (Ilic et al. 2011; Sofronic-Milosavljevic et al. 2015), promoviendo así, el desarrollo de la respuesta inmune hacía una respuesta inmune celular de tipo Th1 (Figura 4A) (Gruden-Movsesijan et al. 2011). Diversos estudios, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, han mostrado que durante la etapa temprana de la infección intestinal por *T. spiralis* hay un incremento significativo de citocinas Th1 como la IL-12 (Gentilini et al. 2011; Yu et al. 2013) INF- γ (Ilic et al. 2008; Gentilini et al. 2011; Gruden-Movsesijan et al. 2011; Yu et al. 2013), IL-1 β (Ming et al. 2016) y TNF- α (Gentilini et al. 2011; Yu et al. 2013).

La IL-12 es una citocina compuesta por dos subunidades unidas, IL-12p40 e IL-12p35, la cual actúa a través de su receptor IL-12 (IL-12R). La IL-12 promueve la diferenciación de las células T *naive* a células Th1 productoras de INF- γ (Teng et al. 2015). El INF- γ , un interferón tipo II, es una citocina que forma parte importante de la inmunidad innata y adaptativa, la cual es producida por diversas células del sistema inmune como los linfocitos T-CD4⁺ en respuesta a algún estímulo inmune o inflamatorio (BarbuleacuK 1998; Bogdan y Schleicher 2006) como patógenos, antígenos específicos, o por la activación del receptor de células T. El INF- γ induce la expresión de moléculas MHC clase I y II en células dendríticas (Pestka et al. 2004), incrementa el desarrollo y diferenciación de las células Th1, induce la expresión de la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), activa factores de transcripción como el factor nuclear (NF)- κ B (Mühl y Pfeilschifter 2003) y regula la producción de citocinas proinflamatorias, como el TNF- α (Neumann et al. 1998). En la respuesta inmune frente a la infección por *T. spiralis*, la IL-12 junto con el INF- γ , son de vital importancia ya que participan en la polarización de la respuesta inmune hacía una respuesta celular de tipo Th1 (Ilic et al. 2008; Gentilini et al. 2011; Gruden-Movsesijan et al. 2011; Yu et al. 2013).

El TNF- α es una potente citocina proinflamatoria, la cual pertenece a una super familia de proteínas ligando/receptor llamada super familia de proteínas del receptor del factor de necrosis tumoral (TNF/TNFR SFP) (Leung y Cahill 2010). El TNF- α es producido por diferentes tipos de células del sistema inmune, como las células dendríticas, macrófagos,

linfocitos Th1, mastocitos, etc., el cual ejerce sus efectos biológicos de manera pleiotrópica y tiene un papel clave en la patogénesis de las enfermedades inflamatorias, ya que participa en la activación de una cascada de citocinas proinflamatorias, especialmente las IL-1 β , IL-6 e IL-8 (Horiuchi et al. 2010; Leung y Cahill 2010; Parameswaran y Patial 2010). Estudios han mostrado que el TNF- α es una citocina que se produce durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* (Gentilini et al. 2011; Yu et al. 2013). Sin embargo, diversas investigaciones mostraron que la producción de TNF- α durante la infección por *T. spiralis* está asociada con el desarrollo de la patología intestinal (Lawrence et al. 1998; Ierna et al. 2008; Ierna et al. 2009; Muñoz-Carrillo et al. 2017).

Uno de los efectos del TNF- α es la inducción de la iNOS y consecuentemente la producción de NO (Bogdan 2001; Guzik et al. 2003; Marzocco et al. 2004; Wink et al. 2011), el cual actúa principalmente como una molécula efectora en contra de parásitos tanto extracelulares e intracelulares (Moncada y Erusalimsky 2002). Estudios han mostrado que los antígenos TSL-1 son capaces de inducir la expresión de la iNOS con la consecuente producción de NO (Andrade et al. 2007). Sin embargo, al igual que el TNF- α , la producción de NO está asociada con el desarrollo de la patología intestinal en la infección por *T. spiralis* (Lawrence et al. 2000; Muñoz-Carrillo et al. 2017).

Por otro lado, la IL-1 β es una citocina proinflamatoria y pirógeno por excelencia que regula las respuestas sistémicas y locales, a través de la generación de fiebre, activación de linfocitos y promoción del reclutamiento y activación de células mieloides en el sitio de infección. Se ha demostrado que la IL-1 β participa en la defensa del hospedero mediante la inducción de la respuesta inmune adaptativa sesgada a linfocitos Th17 y Th1 (Dinarelo 2009; Garib et al. 2016). En la infección por *T. spiralis*, no se conoce bien el rol que desenvuelve la IL-1 β , sin embargo, se sabe que participa en la respuesta inflamatoria intestinal (Ming et al. 2016).

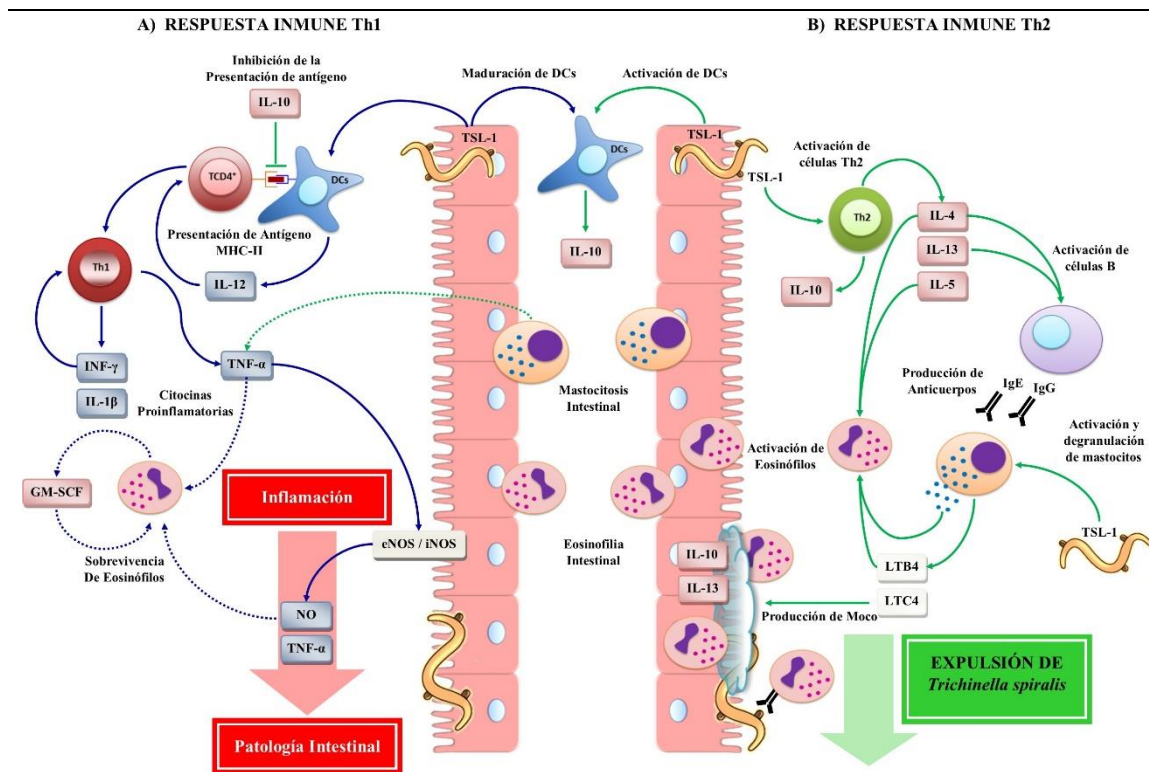


Figura 4. Respuesta inmune durante la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*. A)

Respuesta inmune Th1: Los TSL-1 de *T. spiralis* inducen la maduración de las células dendríticas polarizando hacia una respuesta inmune Th1, la cual se caracteriza principalmente por la liberación de IL-12, INF- γ , GM-SCF, NO, IL-1 β y TNF- α , que junto con la eosinofilia (derivada de la respuesta Th2) potencian la respuesta inflamatoria intestinal, lo que resulta en el desarrollo de la patología intestinal, creando un ambiente favorable para la supervivencia de *T. spiralis*. B) Respuesta Inmune Th2: Los antígenos TSL-1 inducen la activación de células T que junto con la IL-10 polarizan hacia una respuesta inmune Th2 caracterizada por la liberación de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, favoreciendo la expulsión del parásito. Figura elaborada por Muñoz-Carrillo José Luis, referencias citadas en el texto.

5.4.2. Respuesta Inmune Th2: Expulsión de *Trichinella spiralis*

La exposición inicial de los antígenos TSL-1 de *T. spiralis* activa a las células T-CD4⁺ (Ilic et al. 2012) así como a las células dendríticas, lo que conduce a la secreción de grandes cantidades de IL-10 (Sofronic-Milosavljevic et al. 2013). La IL-10 se describió inicialmente como una citocina tipo Th2 (Saraiva y O'garra 2010), pero diversos estudios sugieren que la producción de IL-10 está asociada también con las respuestas de las células T reguladoras (T_{Reg}) (Moore et al. 2001; O'garra y Vieira 2004; Grazia-Roncarolo et al.

2006). Así mismo, la IL-10 también es producida por diversas células del sistema inmune innato y adaptativo, incluyendo a las células dendríticas, macrófagos, mastocitos, células natural-killer (NK), eosinófilos, neutrófilos, T-CD8 y células B. La IL-10 es una citocina que inhibe las respuestas proinflamatorias de la inmunidad innata y adaptativa, y evita las lesiones en los tejidos causadas por respuestas inmunes adaptativas exacerbadas (Ouyang et al. 2011).

La IL-10 actúa a través de la unión a dos cadenas receptoras, IL-10R1 e IL-10R2 (Ho et al. 1993; Liu et al. 1994) y activa la vía de señalización Janus-cinasas-transductores de la señal y activadores de la transcripción (Jak-STAT) (Kotenko et al. 2003), promoviendo la activación de los transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT)-1, STAT-3, STAT-5 y STAT-6, donde STAT-3, es crítico en la mediación de la función de IL-10 en las células inmunes (Meraz et al. 1996), induciendo una respuesta antiinflamatoria mediada a través del IL-10R. Se ha observado que en macrófagos y neutrófilos que carecen de STAT-3, los efectos supresores de la IL-10 sobre la producción de citocinas proinflamatorias están completamente eliminados (Takeda et al. 1999). Al actuar la IL-10 sobre las células dendríticas y macrófagos, inhibe el desarrollo de respuestas de tipo Th1 (Saraiva y O'garra 2010), a través de la supresión de marcadores celulares, la proliferación y presentación de antígeno de células dendríticas, además de inhibir la secreción de IL-12 (Ilic et al. 2012). Aunque la IL-10 es una citocina central durante la fase de resolución de la respuesta inflamatoria, los patógenos evolutivamente han explotado sus funciones para reprimir las respuestas inflamatorias del hospedero durante las infecciones, estableciendo así estados crónicos infecciosos (Ouyang et al. 2011).

En la infección por *T. spiralis*, los antígenos TSL-1 incrementan la producción de IL-10 derivadas de linfocitos Th2 con un decremento en la producción de INF- γ , polarizando la respuesta inmune hacia una respuesta inmune celular de tipo Th2 (Figura 4B), protectora y responsable de la expulsión del parásito (Ilic et al. 2012). Debido a esto, se cree que la IL-10 es necesaria para una respuesta inmune intestinal fructífera, ya que la ausencia o decremento de IL-10 provoca una alta susceptibilidad a la infección primaria por *T. spiralis*, mostrando un retraso significativo en la expulsión del parásito y un incremento en la carga parasitaria (Helmby y Grencis 2003).

En las células Th2, la IL-10 se co-expresa con otras citocinas Th2 como la IL-4 e IL-13 y está regulada por vías de señalización y factores de transcripción Th2-asociados, incluyendo IL-4, STAT-6 y GATA-3 (Zhu et al. 2004; Shoemaker et al. 2006; Chang et al. 2007).

La IL-4 es una citocina pleiotrópica producida por las células Th2, basófilos, mastocitos y eosinófilos, en respuesta a eventos de activación mediados por receptores (Seder y Paul 1994). La IL-4 juega un papel central en la regulación de la diferenciación de células T *naïve* antígeno-estimuladas, haciendo que tales células se desarrollen en células Th2 capaces de producir IL-4 y una serie de otras citocinas Th2 que incluyen IL-5, IL-10 e IL-13. Además, suprime de manera potente la producción de INF- γ (Hsieh et al. 1992; Seder et al. 1994). La IL-4 tiene una variedad de otros efectos en los tejidos hematopoyéticos, aumenta la expresión de moléculas del MHC de clase II en células B, regula positivamente la expresión del receptor de IL-4 (Nelms et al. 1999). Así mismo, la IL-4 también tiene un papel importante en la adhesión tisular y en la respuesta inflamatoria, ya que junto con el TNF- α son capaces de inducir la expresión de la molécula 1 de adhesión de células vasculares (VCAM-1) sobre células endoteliales vasculares (Thornhill et al. 1991), y regula negativamente la expresión de E-selectina (Bennett et al. 1997). Se cree que este cambio en el equilibrio de la expresión de moléculas de adhesión por IL-4 favorece el reclutamiento de células T y eosinófilos en el sitio de inflamación (Nelms et al. 1999).

La IL-13 también es una citocina producida por las células Th2, la cual tiene diversas funciones en una amplia variedad de tipos de células que son relevantes para la patogénesis de trastornos alérgicos (Hershey 2003). Dentro de estas funciones destacan su potente papel inmuno-regulador. En las células B humanas, la IL-13 humana tiene efectos similares a la IL-4, incluyendo la promoción de la proliferación de células B y la inducción de cambio de clase a IgG₄ e IgE (Oettgen y Geha 2001), así como la inducción de la expresión de antígenos superficiales, incluyendo el receptor CD23 (Fc ϵ RII) de baja afinidad a IgE y moléculas del MHC clase II (Chomarat y Banchereau 1998). En monocitos y macrófagos, la IL-13 mejora la expresión de muchos miembros de la familia de las integrinas importantes en la adhesión celular, incluyendo CD11b, CD11c, CD18 y CD29 (Zurawski y Vries 1994), e induce la expresión de MHC clase II y CD23 (De Vries

1998). Además, la IL-13 inhibe la producción de mediadores proinflamatorios derivados de monocitos y macrófagos, incluyendo las prostaglandinas (PG's) (Endo et al. 1996), especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (Doherty et al. 1993), IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α e IL-12 (De Vries 1998), a través de la supresión del NF- κ B (Lentsch et al. 1997). Además, se ha demostrado que protege a ratones de la endotoxemia letal inducida por lipopolisacárido (LPS) por una regulación a la baja de IFN- γ (Muchamuel et al. 1997). Por otro lado, se ha observado que la IL-13 tiene efectos directos sobre eosinófilos, incluyendo la promoción de la supervivencia, activación y reclutamiento de eosinófilos (Luttmann et al. 1996; Horie et al. 1997; Pope et al. 2001). Estudios han reportado que la IL-13 activa mastocitos, promoviendo la síntesis de Inmunoglobulina (Ig)-E (De Vries 1998). A diferencia de IL-4, la IL-13 no es un factor de crecimiento de células T, aunque puede influir su desarrollo (Bancroft et al. 1998).

Tanto la IL-4 como la IL-13, que comparten la subunidad α del receptor de interleucina 4 (IL-4R α) en sus receptores afines, activan al STAT-6 (Hershey 2003). El STAT-6 es necesario para la producción de IL-4 (Kaplan et al. 1996). Por otra parte, la activación de STAT-6 es fundamental para la diferenciación de las células T *naïve* en células Th2, y además regula la producción de citocinas Th2 inducida por la IL-4 e IL-13 (Oh et al. 2010).

La síntesis y liberación de las IL-4 y IL-13, estimulan la producción de IgE, induciendo hiperplasia de mastocitos y eosinófilos, lo que desencadena reacciones de hipersensibilidad inmediata, promoviendo la expulsión de *T. spiralis* del intestino (Gurish et al. 2004; Wang et al. 2008; Ilic et al. 2011; Rogerio y Anibal 2012).

Los mastocitos son células granulares residentes en tejidos derivadas de las células CD34⁺ progenitoras hematopoyéticas (Wedemeyer et al. 2000; Galli y Tsai 2010). Los mastocitos circulan como células inmaduras y migran a los tejidos vascularizados, donde completan su diferenciación. Representan, junto con las células dendríticas, las primeras células del sistema inmunitario que interactúan con antígenos, patógenos y toxinas ambientales. Por lo tanto, pueden ser considerados "centinelas" del sistema inmune innato (Galli et al. 1999).

Los mastocitos son activados por diversos estímulos, a los cuales reaccionan liberando rápidamente una amplia gama de mediadores, tanto preformados como recién producidos. Algunos de estos mediadores, por ejemplo, histamina, TNF- α y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), contribuyen a la permeabilidad vascular local y al edema en el sitio de la inflamación (Parker et al. 2010), mientras que las quimiocinas, como la IL-8 y la eotaxina, inducen el reclutamiento de otras células inmunes (Mekori y Metcalfe 2000), como neutrófilos, células NK y eosinófilos. Es importante destacar que los mastocitos también pueden participar en la defensa contra patógenos por diferentes mecanismos, tales como fagocitosis, liberación de péptidos antimicrobianos o la producción de trampas extracelulares similares a las descritas en neutrófilos (Abraham y John 2010; Urb y Sheppard 2012).

Los mastocitos detectan estos patógenos invasores a través de los receptores clásicos de reconocimiento de patrones (PRRs), tales como los receptores Toll-like (TLR) (Suurmond et al. 2014). Los mastocitos expresan el receptor de alta afinidad para IgE (Fc ϵ RI) (Kawakami y Galli 2002; Knol y Olszewski 2011). La unión cruzada de la IgE sobre el Fc ϵ RI por antígenos y/o alérgenos induce la activación de mastocitos y la liberación rápida de mediadores proinflamatorios vía degranulación. Debido a esta propiedad, junto con los basófilos circulantes, los mastocitos se conocen principalmente como células efectoras de las respuestas mediadas por IgE, la respuesta inmune Th2 (Rivellese et al. 2017), parte del sistema inmune adaptativo desarrollada en contra de los helmintos (Anthony et al. 2007). Además, los mastocitos son células efectoras primarias en reacciones de hipersensibilidad (Galli et al. 2005a; Bischoff 2007). Además de sus funciones como células efectoras, investigaciones sugieren que los mastocitos son capaces de modular tanto la respuesta inmune innata como adaptativa, actuando como células inmunomoduladoras (Galli et al. 2005a, 2005b).

En la infección por *T. spiralis* los mastocitos se expanden rápidamente en la mucosa, predominantemente dentro del epitelio (Ilic et al. 2011), donde los antígenos TSL-1 pueden inducir directamente su degranulación (Yépez-Mulia et al. 2007) liberando moléculas efectoras como la histamina, serin-proteasas (Ilic et al. 2011), y TNF- α (Rogerio y Anibal 2012). Estas moléculas efectoras en combinación con la IL-4 e IL-13

incrementan la contractilidad de las células musculares lisas, la permeabilidad de las células epiteliales y la producción de moco (Gentilini et al. 2011), generando cambios en la integridad epitelial del intestino delgado (Grencis et al. 2014), contribuyendo al desarrollo de la inflamación intestinal (Yépez-Mulia et al. 2007; Knight et al. 2008; Akiho et al. 2011). Por lo tanto, la actividad de la IL-4 e IL-13 es requerida para: 1) la respuesta de los mastocitos lo que conduce a la expulsión de *T. spiralis*; y 2) para la producción de citocinas las cuales controlan la hiperplasia de mastocitos; ya que la ausencia de IL-13 resulta en la inhibición de la expulsión de *T. spiralis* y el desarrollo de la enteropatía (Bruschi y Chiumiento 2012).

Otros mediadores que se liberan a causa de la degranulación de mastocitos son los leucotrienos, los cuales son derivados del metabolismo del ácido araquidónico y se cree que juegan un papel importante en la respuesta inmune contra *T. spiralis*. El leucotrieno-C4 (LTC4) causa contracción del músculo liso, aumenta la permeabilidad vascular y estimula la hipersecreción de moco. El leucotrieno-B4 (LTB4) activa eosinófilos, favoreciendo la expulsión del parásito (Rogerio y Anibal 2012).

Por otro lado, los eosinófilos se producen en la médula ósea a partir de células madre pluripotenciales, que primero se diferencian en un precursor para basófilos y eosinófilos y luego se diferencia en un linaje eosinofílico (Boyce et al. 1995). Las IL-3, IL-4, IL-5 y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), son particularmente importantes en la regulación del desarrollo de los eosinófilos (Lopez et al. 1986, 1988; Rothenberg et al. 1988; Takatsu et al. 1994). De estas tres citocinas, la IL-5 es la más específica para el linaje eosinofílico y es la responsable de la diferenciación selectiva (Sanderson 1992) y liberación de eosinófilos desde la médula ósea hacia la circulación periférica (Collins et al. 1995). La IL-5 juegan un papel crítico en la producción de eosinófilos, ya que la sobreproducción (Dent et al. 1990; Tominaga et al. 1991) y neutralización de esta citocina están asociadas con el aumento o disminución significativa de la eosinofilia, respectivamente (Foster et al. 1996; Kopf et al. 1996; Flood-Page et al. 2003).

Los eosinófilos son leucocitos multifuncionales implicados en la patogénesis de numerosos procesos inflamatorios (Rothenberg 2004), incluyendo las infecciones parasitarias por nematodos-GI y las enfermedades alérgicas (Gleich y Loegering 1984; Weller 1994; Rothenberg 1998; Rothenberg y Hogan 2006). Bajo condiciones basales, la mayoría de los eosinófilos circulan hacia el tracto gastrointestinal donde habitualmente residen dentro de la lámina propia, cuya producción es independiente de la producción de linfocitos (Mishra et al. 1999).

En respuesta a diversos estímulos, como inmunoglobulinas, citocinas y el sistema del complemento, los eosinófilos son activados y reclutados desde la circulación hacia el sitio de inflamación (Kita 1996). El tráfico de eosinófilos en los sitios de inflamación involucra una serie de citocinas, en particular, citocinas derivadas de una respuesta inmune tipo Th2 como la IL-4, IL-5 e IL-13 (Sher et al. 1990; Horie et al. 1997), moléculas de adhesión (por ejemplo, integrinas- β 1, - β 2 y - β 7) (Bochner y Schleimer 1994) y quimiocinas (Zimmermann et al. 2003). Una vez en el sitio de inflamación, los eosinófilos pueden modular la respuesta inmune a través de la secreción de diversos mediadores proinflamatorios como la IL-2, IL-6, IL-8, factor de crecimiento transformante (TGF)- α/β , GM-CSF, TNF- α , INF- γ , así como quimiocinas y mediadores lipídicos, como el factor activador de plaquetas (PAF) y LTC₄ (Rothenberg y Hogan 2006), los cuales ejercen efectos proinflamatorios como la regulación positiva de los sistemas de adhesión, la modulación del tráfico celular, y la activación y regulación de la permeabilidad vascular, la secreción de moco y la constricción del músculo liso.

Además, los eosinófilos pueden servir como células efectoras, las cuales pueden inducir daño tisular liberando una serie de proteínas catiónicas de sus gránulos citotóxicos, proteína básica mayor (MBP), proteína catiónica eosinofílica (ECP), eosinófilo peroxidasa (EPO) y neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN) (Gleich y Loegering 1984). Estas proteínas son de gran importancia, ya que están directamente relacionadas con las funciones efectoras de los eosinófilos. Por ejemplo, la ECP participa en la supresión de las respuestas proliferativas de células T y la síntesis de inmunoglobulinas por células B, induce la degranulación de mastocitos y la estimulación de secreción de moco en vías aéreas, así como la producción de glucosaminoglicanos por fibroblastos

humanos (Venge et al. 1999). Mientras que la EPO, está asociada en la formación de especies reactivas de oxígeno y metabolitos reactivos del nitrógeno. Estas moléculas promueven el estrés oxidativo y la muerte celular posterior por apoptosis y necrosis (Agosti et al. 1987; Wu et al. 1999; MacPherson et al. 2001).

Además de las múltiples acciones efectoras de los eosinófilos, estas células pueden iniciar respuestas inmunitarias antígeno-específicas actuando como células presentadoras de antígeno (Shi et al. 2000; MacKenzie et al. 2001), ya que pueden procesar y presentar una variedad de antígenos bacterianos (Mawhorter et al. 1994), virales (Handzel et al. 1998) y parasitarios (Shi 2004). Aunque, investigaciones demostraron una asociación directa de los eosinófilos con las infecciones parasitarias, estableciendo la hipótesis de que los eosinófilos son las células efectoras clásicas en la defensa del hospedero (Butterworth 1977), diversos estudios han mostrado que la ausencia de eosinófilos durante la infección por helmintos protege al hospedero (Fabre et al. 2009), por lo que los eosinófilos pueden influenciar la respuesta inmune de manera que su producción soporta la infección crónica y asegura la supervivencia del parásito en el hospedero (Huang et al. 2014, 2015a, 2015b).

Durante la infección por *T. spiralis* los antígenos TSL-1 estimulan a las células Th2, lo que conduce a la liberación de IL-4 e IL-5 (Bruschi et al. 2008), las cuales son un factor crítico en la diferenciación terminal y proliferación de eosinófilos, los cuales están implicados en el desarrollo de la patología intestinal, promoviendo así la respuesta inflamatoria durante la infección por *T. spiralis* (Vallance et al. 2000; Gottstein et al. 2009).

5.5. Tratamiento en la trichinellosis

La farmacoterapia utilizada en la trichinellosis incluye: 1) el uso de fármacos antiparasitarios, como los bezimidazoles, principalmente el albendazol y mebendazol, los cuales están dirigidos contra el parásito (Gottstein et al. 2009); y 2) los fármacos antiinflamatorios de tipo esteroideo, como los GC, cuya finalidad es el tratamiento de los signos y síntomas de la respuesta inflamatoria producida por la infección (Dupouy-Camet et al. 2002; Shimoni et al. 2007).

5.5.1. Glucocorticoides: antiinflamatorios de tipo esteroideo

Los GC endógenos son hormonas esteroides sintetizadas y liberadas de la corteza adrenal (Oakley y Cidlowski 2011), los cuales regulan vías transcripcionales en diversos contextos celulares como el desarrollo, homeostasis, metabolismo y la inflamación (Biddie et al. 2012). Mientras que los GC endógenos desempeñan un papel clave en muchos aspectos de la salud y la enfermedad, los GC sintéticos exógenos se han utilizado ampliamente de manera terapéutica como fármacos antiinflamatorios (Nixon et al. 2012; Serra et al. 2012).

A nivel celular, la acción de los GC está mediada por el receptor de GC (GR), el cual está asociado a diversas proteínas chaperonas de shock térmico (HSPs) 90, 70 y p23, así como a otras proteínas que lo mantienen en una conformación inactiva (Charmandari 2011). La unión del GR a los GC provoca su disociación y consecuente translocación del citoplasma al núcleo celular (Saklatvala 2002; De Iudicibus et al. 2011). Una vez en el núcleo, el complejo GC-GR se une, en forma de homodímero, a los elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE) en las regiones promotoras de genes blanco en el ADN, y regulan su expresión de manera positiva o negativamente (Figura 5) (Charmandari 2011).

En la regulación transcripcional positiva, llamada también trans-activación, se activan genes que codifican a los receptores β 2-adrenérgicos, lipocortina-1, proteína secretora inhibidora de leucocitos, inhibidor de NF- κ B (I κ B- α), quinasa fosfatasa-1 activada por mitógenos (MKP-1), que inhibe las vías de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), citocinas antiinflamatorias como la IL-10, y el receptor antagonista de IL-1. Estos efectos génicos contribuyen a la actividad antiinflamatoria de los GC (Barnes 2006, 2011).

En la regulación transcripcional negativa, llamada también cis-represión, los GC pueden suprimir la transcripción de genes blanco, como los de la pro-opiomelanocortina, precursor de la hormona adrenocorticotropa (ACTH), prolactina, osteocalcina implicada en la síntesis ósea, lo que conduce a sus efectos colaterales como la osteoporosis, la diabetes y la hipertensión (Saklatvala 2002; Dostert y Heinzl 2004; Barnes 2011).

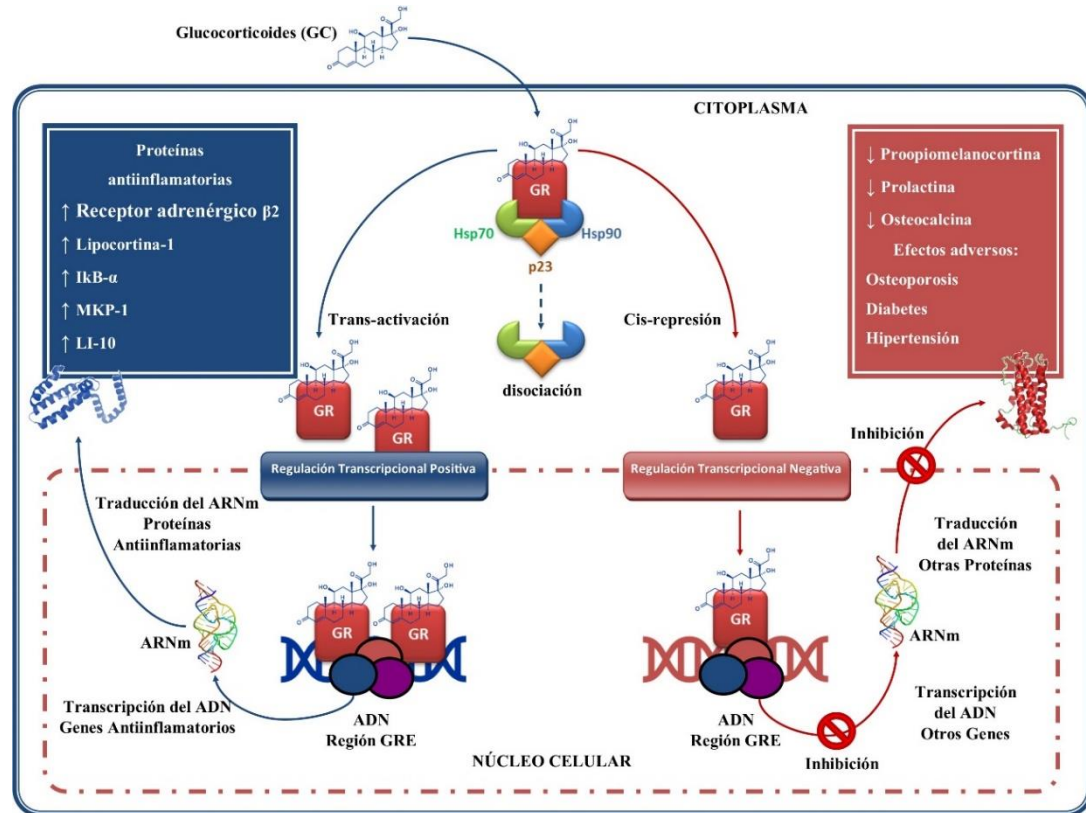


Figura 5. Regulación génica de los glucocorticoides. Los GC entran en la célula para unirse a los receptores de glucocorticoides (GR) en el citoplasma formando un complejo GC-GR que luego se transloca al núcleo. Una vez en el núcleo se unen a los GRE en la región promotora de genes sensibles a esteroides, regulando así la expresión génica de 2 maneras: 1) a través de la trans-activación de genes que codifican proteínas antiinflamatorias; y 2) a través de la cis-represión de genes asociados a sus efectos secundarios. Figura elaborada por Muñoz-Carrillo José Luis, referencias citadas en el texto.

Por otro lado, los GC también actúan como inmunosupresores, ya que regulan la función de varias células inflamatorias (Belvisi 2004). Además, inhiben la expresión de genes proinflamatorios por supresión de factores de transcripción, como el NF- κ B (Ray 1994; Scheinman et al. 1995; Wullaert et al. 2011) y la proteína activadora (AP)-1 (Biddie et al. 2012), a través de la interacción proteína-proteína (Flammer y Rogatsky 2011), regulando la expresión de genes que codifican para diversas citocinas inflamatorias, tales como TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-8, IFN- α and IFN- β , enzimas inflamatorias como iNOS, ciclooxigenasa (COX)-2, fosfolipasa A2 Inducible (cPLA2), moléculas de adhesión y receptores inflamatorios (Figura 6) (Ashwell et al. 2000; Galon et al. 2002).

Otro de mecanismo de acción por parte de los GC es a través de la inhibición de la señalización en las vías de las MAPK, las cuales son activadas por estímulos inflamatorios, tales como la IL-1 β , TNF- α , productos microbianos como el LPS y por estrés celular, como la radiación ultravioleta (UV) (Saklatvala 2002). Una vez activadas, las MAPK fosforilan diversos sustratos incluyendo otras proteínas que controlan la expresión de genes. Por ejemplo, activan al NF- κ B, a través de la fosforilación de su inhibidor I κ B, y a la AP-1. En este mecanismo los GC inhiben las vías de señalización de las MAPK ejerciendo su efecto antiinflamatorio. Esto sugiere que los GC pueden bloquear la señalización de la respuesta inflamatoria en un nivel por encima de la activación de factores de transcripción (Figura 6) (Lasa et al. 2001).

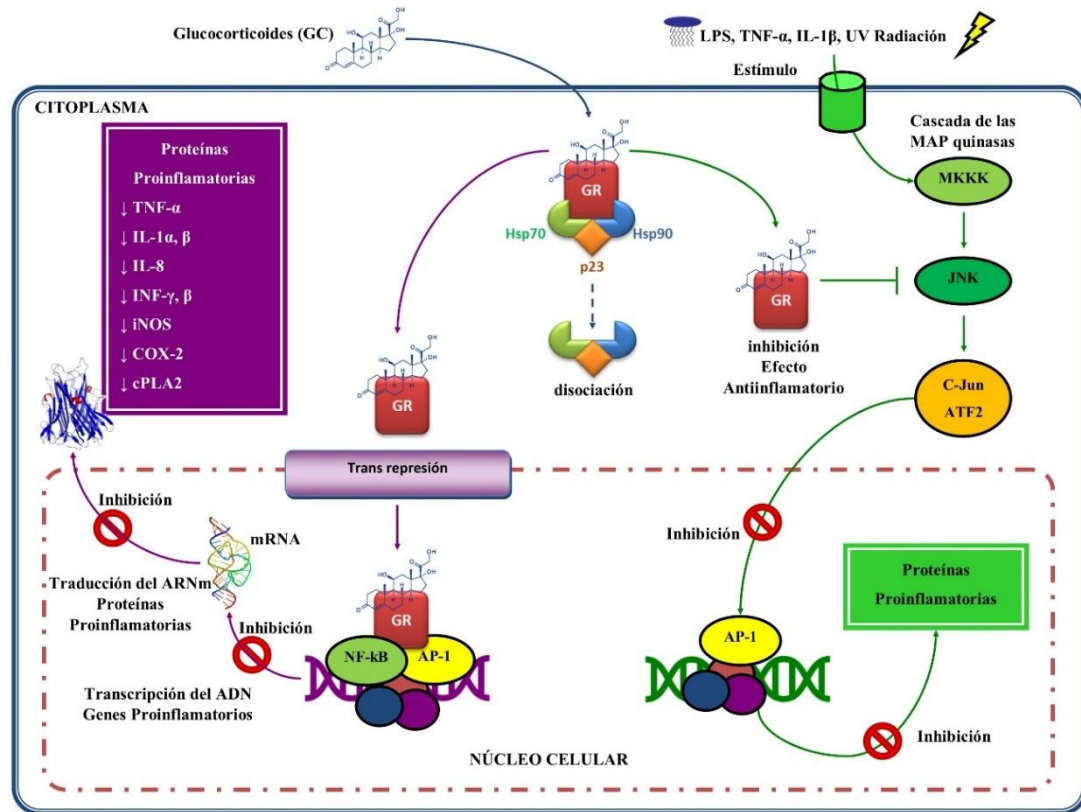


Figura 6. Efecto antiinflamatorio de los glucocorticoides. El complejo GC-GR también puede interactuar con factores de transcripción proinflamatorios, como el NF- κ B y la AP-1, reprimiéndolos y, por lo tanto, inhibiendo la expresión de genes proinflamatorios. Los GC también pueden actuar inhibiendo a las MAP quinasas, bloqueando los mecanismos de transcripción y traducción, subyacentes a la expresión de genes inflamatorios. Figura elaborada por Muñoz-Carrillo José Luis, referencias citadas en el texto.

A pesar de que los GC son potentes fármacos antiinflamatorios, su uso terapéutico en la Trichinellosis está limitado, ya que previos estudios han mostrado que el tratamiento con GC suprime el sistema inmune del hospedero, favoreciendo la infección por *T. spiralis* (Bozic et al. 2000). Un estudio mostro que en ratas tratadas con betametasona fueron más susceptibles a la infección, ya que se observó un aumento de la carga parasitaria en comparación con el grupo control infectado (Alvarado et al. 1996). Otro estudio, mostró resultados similares, donde se observó que el tratamiento con dexametasona (DEX) aumentó la proporción de linfocitos apoptóticos y necróticos, así como el número de L1 de *T. spiralis* en tejido muscular en ratones tratados con DEX (Piekarska et al. 2010). Una investigación reciente mostró que el tratamiento con DEX en la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* inhibió la producción de mediadores por-inflamatorios, tales como la PGE₂, NO y TNF- α ; disminuyendo el número de eosinófilos en sangre y el desarrollo de la patología intestinal, observándose una reducción en la hiperplasia de las criptas intestinales y la reconstitución de las vellosidades intestinales. Sin embargo, en la fase muscular incrementó significativamente la implantación y carga parasitaria de *T. spiralis* (Muñoz et al. 2017).

5.5.2. Resiniferatoxina: nuevo tratamiento antiinflamatorio

Debido a la limitada eficacia farmacológica de los GC frente a la infección por *T. spiralis*, surge la necesidad de investigar nuevas estrategias farmacológicas basadas en la supresión de la respuesta inmune de tipo Th1, que ayuden al hospedero contra la infección por *T. spiralis*. Una molécula con potencial terapéutico para la supresión de la respuesta inmune Th1 durante la infección por *T. spiralis* podría ser la RTX.

La RTX es un vanilloide derivado de la planta tipo cactus *Euphoria resinífera*, agonista del receptor vanilloide de potencial transitorio (TRPV)-1 (Pal et al. 2009; Salazar et al. 2009; Nilius y Szallasi 2014), la cual activa y luego desensibiliza al receptor TRPV1 produciendo un efecto analgésico (Carnevale y Rohacs 2016; Lee et al. 2016). Además de las múltiples acciones biológicas de la RTX mediadas a través del TRPV1, estudios han demostrado que la RTX tiene una importante actividad antiinflamatoria tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*. Un estudio mostró que la RTX inhibo la expresión del NF- κ B de

manera dosis-dependiente en células de la línea humana de células mielomonoblásticas leucémicas (ML-1a) estimuladas con TNF- α (Figura 7A) (Singh et al. 1996). Otro estudio mostró que la RTX inhibió la expresión de la iNOS y COX-2 en macrófagos RAW264.7 estimulados con LPS e IFN- γ , resultando en una disminución de PGE₂ y NO (Figura 7B) (Chen et al. 2003).

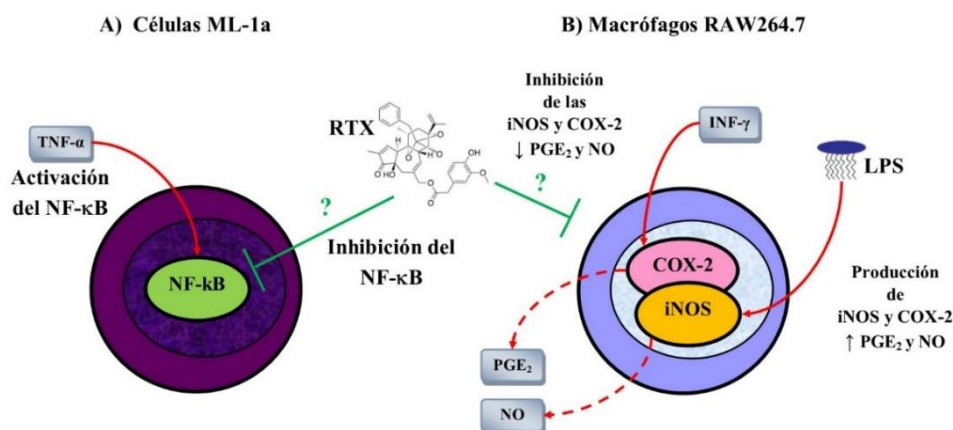


Figura 7. Actividad antiinflamatoria de la resiniferatoxina en modelos *in vitro*. A) RTX inhibe la expresión del NF-κB de manera dosis dependiente en células ML-1a previamente estimuladas con TNF- α . B) RTX inhibe la expresión de la iNOS y la COX-2 en macrófagos RAW264.7 estimulados con LPS e IFN- γ . Figura elaborada por Muñoz-Carrillo José Luis, referencias citadas en el texto.

Por otro lado, un estudio basado en un modelo de insuficiencia renal isquémica aguda (ARF, por sus siglas en inglés) en rata mostró que el tratamiento con RTX previno el daño renal inhibiendo la respuesta inflamatoria, disminuyendo de manera simultánea la expresión del TNF- α renal con un aumento de IL-10 en plasma (Figura 8A) (Ueda et al. 2008). Otro estudio en ratones BALB/c estimulados con LPS mostró que la RTX disminuyó significativamente los niveles en suero de PGE₂, NO y TNF- α (Figura 8B) (Gutiérrez-Coronado et al. 2012). Finalmente, un estudio reciente mostró que el tratamiento con RTX durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*, disminuyó los niveles en suero de PGE₂, NO y TNF- α , así como el número de eosinófilos en sangre. Mientras que en la fase muscular de la infección por *T. spiralis*, el tratamiento con RTX disminuyó significativamente la implantación de L1 en el tejido muscular, así como la carga parasitaria (Figura 8C) (Muñoz-Carrillo et al. 2017).

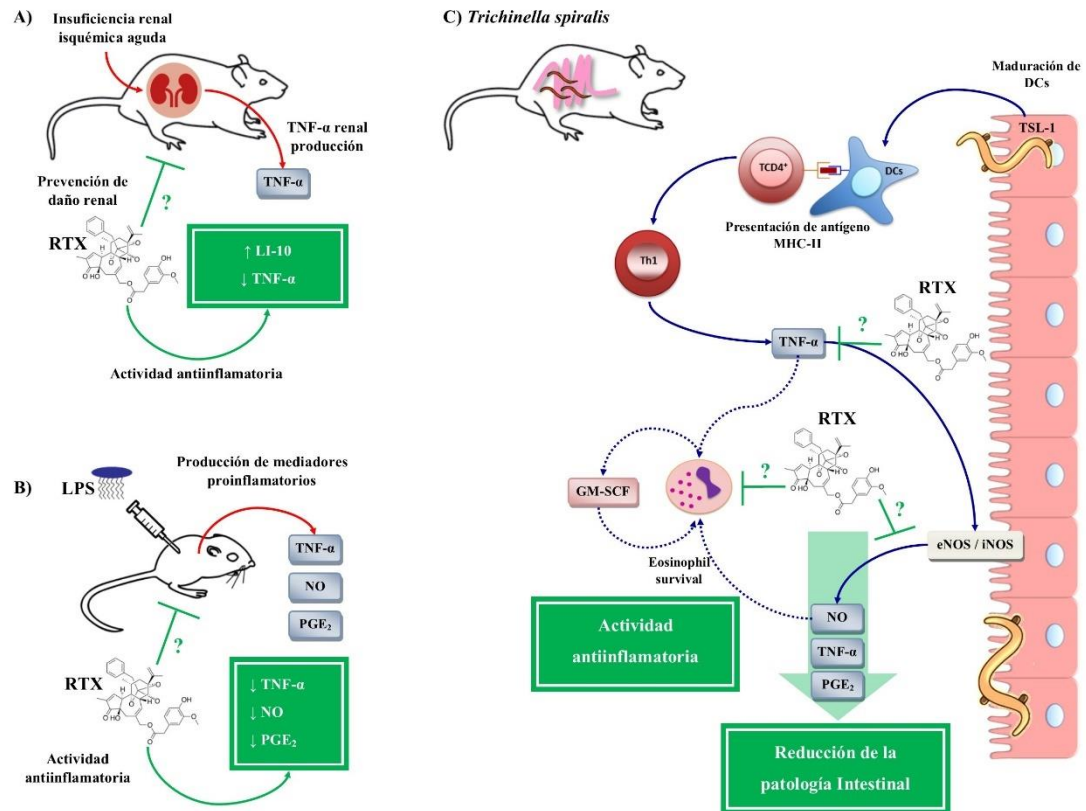


Figura 8. Actividad antiinflamatoria de la resiniferatoxina en modelos *in vivo*. A) Disminución del TNF- α renal y aumento de IL-10 en plasma en un modelo de rata con ARF tratada con RTX. B) Decremento de PGE₂, NO y TNF- α en un modelo de ratones BALB/c estimulados con LPS, tratados con RTX C) Inhibición de PGE₂, NO y TNF- α , durante la respuesta inflamatoria intestinal tratada con RTX en la infección por *T. spiralis*. Figura elaborada por Muñoz-Carrillo José Luis, referencias citadas en el texto.

VI. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la trichinellosis es considerada, por la WHO y FAO, como una enfermedad reemergente, ya que, al ser la séptima parasitosis más importante a nivel mundial y que en México el diagnóstico y tratamiento tempranos son difíciles, la investigación científica en el desarrollo de nuevos tratamientos eficaces es de relevancia directa para la salud humana y animal. Esto se debe a que, su agente etiológico más importante, el parásito nematodo *T. spiralis*, establece una infección crónica, modulando la respuesta inmune, afectando de manera importante la salud del hospedero.

La infección por *T. spiralis* provoca una respuesta inmune primaria a nivel intestinal cuya finalidad es la expulsión del parásito. Esta respuesta inmune se caracteriza por la inducción temprana de una respuesta inmune celular de tipo Th1, con una subsecuente respuesta celular de tipo Th2, resultando en una mezcla de ambas respuestas inmunes Th1/Th2. Investigaciones han demostrado que la producción de mediadores y citocinas proinflamatorias, resultado de la respuesta inmune Th1, así como el reclutamiento de células como eosinófilos y mastocitos derivadas de la respuesta inmune Th2, participan en el progreso de la respuesta inflamatoria, lo que conduce al desarrollo de la inmunopatología intestinal. En este contexto, la farmacoterapia utilizada actualmente es a través del uso de glucocorticoides, cuya finalidad es disminuir la respuesta inflamatoria. Sin embargo, el uso terapéutico de los glucocorticoides en la trichinellosis está limitado, debido a que suprimen la respuesta inmune del hospedero, favoreciendo la infección.

Ante esta problemática terapéutica, surge la necesidad de investigar nuevas estrategias farmacológicas que modulen ambas respuestas inmunes Th1/Th2, de manera que disminuyan la respuesta inflamatoria y la inmunopatología intestinal, protegiendo de este modo al hospedero frente a la infección por *T. spiralis*. Por lo que el propósito de esta investigación fue evaluar el potencial terapéutico de la resiniferatoxina, como modulador de las respuestas inmunes Th1/Th2, de manera que proteja al hospedero frente a la infección por *T. spiralis*, ya que estudios previos mostraron que la resiniferatoxina tuvo actividad antiinflamatoria asociada con la disminución de la patología intestinal y carga parasitaria muscular de *T. spiralis*.

VII. HIPÓTESIS

La resiniferatoxina modula la respuesta inmune Th1 y Th2 durante la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis* en un modelo murino, promoviendo la expulsión del parásito.

VIII. OBJETIVOS

8.1. Objetivo General

Evaluar el papel inmunomodulador la resiniferatoxina durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal de un modelo murino infectado con *T. spiralis*.

8.2. Objetivos Específicos

Fase intestinal de la infección por *T. spiralis*.

- I. Cuantificar los niveles en suero de citocinas Th1 como la IL-12, INF- γ , IL-1 β y TNF- α de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.
- II. Cuantificar los niveles en suero de citocinas Th2 como la IL-4, IL-10 e IL-13 de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.
- III. Determinar el porcentaje de eosinófilos en sangre de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.
- IV. Determinar el número de eosinófilos y mastocitos en tejido intestinal de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.
- V. Cuantificar el número de parásitos adultos de *T. spiralis* en intestino delgado de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.

Fase muscular de la infección por *T. spiralis*

- VI. Evaluar el efecto del tratamiento en fase intestinal con resiniferatoxina sobre la implantación de L1 de *T. spiralis* de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.
- VII. Evaluar el efecto del tratamiento en fase intestinal con resiniferatoxina sobre la carga parasitaria de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.
- VIII. Evaluar el efecto del tratamiento en fase intestinal con resiniferatoxina sobre la viabilidad de las L1 de *T. spiralis* de los grupos control y tratados con resiniferatoxina.
- IX. Evaluar la infectividad de las L1 de *T. spiralis* de los grupos control y tratados con resiniferatoxina en un segundo hospedero (ratones BALB/c).

IX. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas (UACB-UAZ), en colaboración con el Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FCB-UANL).

9.1. Tipo de investigación

La presente investigación es un estudio experimental, cuantitativo y cualitativo.

9.2. Variables de estudio

9.2.1. Variables dependientes

- Niveles en suero de citocinas Th1: L-12, INF- γ , IL-1 β y TNF- α .
- Niveles en suero de citocinas Th2: IL-4, IL-10 e IL-13.
- Porcentaje de eosinófilos en sangre.
- Número de eosinófilos en tejido intestinal.
- Número de mastocitos en tejido intestinal.
- Número de adultos de *T. spiralis* en intestino delgado.
- Número de L1 de *T. spiralis* en tejido muscular.
- Carga parasitaria de *T. spiralis* de modelo de rata.
- Carga parasitaria de *T. spiralis* de modelo de ratón.

9.2.2. Variables independientes

- Dosis de resiniferatoxina
- Dosis de dexametasona
- Dosis de L1 de *T. spiralis* en modelo de rata.
- Dosis de L1 de *T. spiralis* en modelo de ratón.

9.3. Modelo animal experimental

Todos los animales utilizados en esta investigación fueron proporcionados por el Bioterio de la UACB-UAZ, los cuales se mantuvieron en habitaciones con temperatura controlada y alimento balanceado especial para roedores.

9.3.1. Modelo de rata

Se utilizaron ratas hembras de cepa Long-Evans de 2½ meses de edad, con un peso corporal de 250 a 300 gramos. Se formaron 23 grupos de trabajo, compuestos cada uno de seis ratas, con un total de 138 animales.

Los grupos fueron formados de la siguiente manera: un grupo control sano (CS); un grupo control sano tratado con RTX (CS-RTX). Para la fase intestinal, los grupos se conformaron de la siguiente manera: cuatro grupos control infectados con *T. spiralis* (CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4), sacrificados los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente; cuatro grupos control infectados con *T. spiralis* tratados con DEX (Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}), sacrificados los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente; cuatro grupos infectados con *T. spiralis* tratados con RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}), sacrificados los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente. Para la fase muscular, los grupos se conformaron de la siguiente manera: un grupo control infectado con *T. spiralis* (CITsp-5), sacrificado el día 28 p.i.; cuatro grupos control infectados con *T. spiralis* tratados con DEX (Tsp-DEX-1_{FM}, Tsp-DEX-2_{FM}, Tsp-DEX-3_{FM} y Tsp-DEX-4_{FM}), sacrificados el día 28 p.i.; cuatro grupos infectados con *T. spiralis* tratados con RTX (Tsp-RTX-1_{FM}, Tsp-RTX-2_{FM}, Tsp-RTX-3_{FM} y Tsp-RTX-4_{FM}), sacrificados el día 28 p.i.

9.3.2. Modelo de ratón

Se utilizaron ratones hembras de la cepa BALB/c de 2½ meses de edad, con un peso corporal de 20 a 25 gramos. Se formaron 9 grupos de trabajo, compuestos cada uno de 3 ratones, con un total de 27 animales.

Los grupos fueron formados de la siguiente manera: un grupo control infectado con *T. spiralis* (rCITsp), sacrificado el día 28 p.i.; cuatro grupos control infectados L1 de *T. spiralis* tratadas con DEX (rTsp-DEX-1, rTsp-DEX-2, rTsp-DEX-3 y rTsp-DEX-4), sacrificados en día 28 p.i.; cuatro grupos infectados L1 de *T. spiralis* tratadas con RTX (rTsp-RTX-1, rTsp-RTX-2, rTsp-RTX-3 y rTsp-RTX-4), sacrificados en día 28 p.i.

9.4. Infección experimental

9.4.1. Modelo de rata

Las ratas de todos los grupos control y tratados con DEX y RTX, fueron infectados con 500 L1 de *T. spiralis* derivadas de ratas de conserva Long-Evans infectadas con *T. spiralis*, las cuales se obtuvieron del bioterio de la UACB-UAZ.

9.4.2. Modelo de ratón

Los ratones fueron infectados con 150 L1 de *T. spiralis* procedentes de los grupos de ratas de la siguiente manera: el grupo control rCITsp fue infectado con 150 L1 de *T. spiralis* del grupo control infectado CITsp-5; los grupos control rTsp-DEX-1, rTsp-DEX-2, rTsp-DEX-3 y rTsp-DEX-4, fueron infectados con 150 L1 de *T. spiralis* procedentes de los grupos de ratas tratadas con DEX (Tsp-DEX-1_{FM}, Tsp-DEX-2_{FM}, Tsp-DEX-3_{FM} y Tsp-DEX-4_{FM}, respectivamente); los grupos rTsp-RTX-1, rTsp-RTX-2, rTsp-RTX-3 y rTsp-RTX-4, fueron infectados con 150 L1 de *T. spiralis* procedentes de los grupos de ratas tratadas con RTX (Tsp-RTX-1_{FM}, Tsp-RTX-2_{FM}, Tsp-RTX-3_{FM} y Tsp-RTX-4_{FM}, respectivamente).

9.5. Farmacoterapia

9.5.1. Tratamiento control

Se administró vía intraperitoneal (i.p.) Fosfato Sódico de Dexametasona con dosis de 1 mg/Kg de peso corporal (Sun et al. 2012) de la siguiente manera: los grupos Tsp-DEX-1_{FI} y Tsp-DEX-1_{FM} fueron tratados con una dosis de DEX el día 1 p.i.; los grupos Tsp-DEX-2_{FI} y Tsp-DEX-2_{FM} fueron tratados con dos dosis de DEX los días 1 y 3 p.i.; los grupos Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-3_{FM} fueron tratados con tres dosis de DEX los días 1, 3 y 5 p.i.;

y los grupos Tsp-DEX-4_{FI} y Tsp-DEX-4_{FM} fueron tratados con tres dosis de DEX los días 3, 5 y 7 p.i.

9.5.2. Tratamiento experimental

Se administró vía i.p. resiniferatoxina (Sigma-Aldrich, 3050 Spruce St., Saint Louis, MO, USA, 63103) con dosis de 20 µg/Kg de peso corporal (Ueda et al. 2008) de la siguiente manera: los grupos Tsp-RTX-1_{FI} y Tsp-RTX-1_{FM} fueron tratados con una dosis de RTX el día 1 p.i.; los grupos Tsp-RTX-2_{FI} y Tsp-RTX-2_{FM} fueron tratados con dos dosis de RTX los días 1 y 3 p.i.; los grupos Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-3_{FM} fueron tratados con tres dosis de RTX los días 1, 3 y 5 p.i.; y los grupos Tsp-RTX-4_{FI} y Tsp-RTX-4_{FM} fueron tratados con tres dosis de RTX los días 3, 5 y 7 p.i.

9.5.3. Tratamiento anestésico

Todos los animales fueron anestesiados con Sofloran® Vet (PiSA Agropecuaria, Reg. S.A.G.A.R.P.A Q-7833-222), anestésico de uso veterinario que contiene isoflurano al 100% (solución de éter halogenado), con dosis del 2 al 3%/Kg de peso corporal, para roedores por vía de inhalación.

9.6. Obtención de suero

La muestra de sangre de rata se obtuvo por el método de extracción de sangre del seno retro-orbital, utilizando un capilar y depositando la sangre en tubos eppendorf de 2 mL sin anticoagulante. Posteriormente, se centrifugó a 10³ rpm durante 10 minutos a 4°C (en una centrifuga Spectrafuge 24D, de LAB-NET International, Inc., modelo C2400-B). Después se colectó el suero en alícuotas en tubos eppendorf de 100 µL y se almacenaron a -20°C hasta su uso (Muñoz 2013).

9.7. Cuantificación de citocinas Th1 en suero

Las concentraciones en suero de rata de citocinas Th1 fueron determinadas cuantitativamente, en los grupos control CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, y 90 minutos después de la administración del tratamiento de los grupos tratados con DEX

(Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}) y RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}), en los días 1, 3, 5 y 7 p.i., usando kits de Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) (Life Technologies Corporation, 7335 Executive Way, Frederick, MD 21704 USA) para IL-12 y (PEPREOTECH, Princenton Business Park, 5 Crescent Ave., P.O. Box 275. Rocky Hill, NJ 08553 USA) para INF- γ , IL-1 β y TNF- α .

9.8. Cuantificación de citocinas Th2 en suero

Las concentraciones en suero de rata de citocinas Th2 (IL-4, IL-10 e IL-13) fueron determinadas cuantitativamente, en los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, y 90 minutos después de la administración del tratamiento de los grupos tratados con DEX (Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}) y RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}), en los días 1, 3, 5 y 7 p.i., usando kits de ELISA (Abcam Inc. 1 Kendall Square Suite B2304, Cambridge, MA 02139-1517, USA).

9.9. Determinación del porcentaje de eosinófilos en sangre

Se realizó frotis sanguíneo de los grupos CS y CS-RTX. De los de los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4 se realizaron frotis sanguíneos los días 1, 3, 5 y 7 p.i. De los grupos tratados con DEX: Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}, se realizaron frotis sanguíneos los días 1, 3, 5 y 7 p.i., respectivamente. De los grupos tratados con RTX: Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}, se realizaron frotis sanguíneos los días 1, 3, 5 y 7 p.i., respectivamente. Posteriormente a los frotis sanguíneos se les realizó tinción Wright (Equipo de Wright, GOLDEN BELL Reactivos 82300) para la determinación del porcentaje de eosinófilos en sangre periférica. Se observó el número de eosinófilos presentes en la muestra al microscopio óptico de luz (Carl Zeiss Primo Star, model 3708; Carl Zeiss Microscopy GmgH, Göttingen, Germany) usando un objetivo de inmersión 100x. Se determinó el promedio del porcentaje de eosinófilos (%Eos) en sangre por cada 100 células blancas por triplicado (300 células) (Muñoz-Carrillo et al. 2017).

9.10. Determinación del número de eosinófilos en tejido intestinal

Para la determinación del número de eosinófilos en tejido intestinal, se obtuvieron las porciones de duodeno, yeyuno e íleon del intestino delgado de ratas de los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, así como de los grupos tratados con DEX (Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}) y RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}), sacrificados los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente. Las porciones obtenidas fueron fijadas en solución de formol al 10%, y se incluyeron en parafina. Después, se seccionaron y se les realizó la tinción con hematoxilina y eosina en portaobjetos de vidrio (Gridley 1957; Muñoz 2013). Los eosinófilos en intestino delgado fueron contados en 25 campos (2, 500 μm^2 por campo) seleccionados al azar por cada muestra a un objetivo de 100x de magnificación empleando un área conocida (62, 500 μm^2), bajo el microscopio óptico de luz (Carl ZEISS Primo Star, modelo 3708. Carl Zeiss Microscopy GmgH 37081 Göttingen, GERMANY). Los resultados fueron expresados como el número de eosinófilos/UAID (Unidad de Área de Intestino Delgado: 62, 500 μm^2 a 100x de magnificación) (Gentilini et al. 2011).

9.11. Determinación del número de mastocitos en tejido intestinal

Para la determinación del número de mastocitos en tejido intestinal, se obtuvieron las porciones de duodeno, yeyuno e íleon del intestino delgado de ratas de los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, así como de los grupos tratados con DEX (Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}) y RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}), sacrificados los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente. Las porciones obtenidas fueron fijadas en solución de formol al 10%, y se incluyeron en parafina. Después, se seccionaron (4 μm), desparafinaron e hidrataron con agua destilada. Posteriormente las muestras se tiñeron con Toluidina blue (CI 1273; Merck, Germany) con una solución de trabajo Toluidina Blue Stock (Toluidina Blue O 1 mg; 100 mL de etanol al 70%) más 1% de cloruro de sodio. Los mastocitos en intestino delgado fueron contados en 25 campos (2, 500 μm^2 por campo) seleccionados al azar por cada muestra a un objetivo de 100x de magnificación empleando un área conocida (62, 500 μm^2), bajo el microscopio óptico de luz (Carl ZEISS Primo Star, modelo 3708. Carl Zeiss Microscopy

GmgH 37081 Göttingen, GERMANY). Los resultados fueron expresados como el número de mastocitos/ UAID (Unidad de Área de Intestino Delgado: 62, 500 μm^2 a 100x de magnificación) (Gentilini et al. 2011).

9.12. Cuantificación de parásitos adultos de *T. spiralis* en intestino delgado

La expulsión de *T. spiralis* fue determinada y comparada los días 3, 5, 7 y 10 p.i. de los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4 y tratados con DEX (Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}) y RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}). Para la cuantificación del número total de parásitos adultos de *T. spiralis* se extrajo el intestino delgado de rata de todos los grupos. Posteriormente, se seccionó en partes de aproximadamente 5 cm de longitud, las cuales se abrieron de manera longitudinal, para separar la mucosa intestinal mediante un raspado con un portaobjetos. Luego el raspado obtenido se colocó en un tubo falcón de 15 mL, al cual se le agregó solución buffer de fosfatos (PBS) pH 7.4 (v/v 1/5). Posteriormente se tomaron 250 μL del raspado intestinal y se colocaron en un portaobjetos, donde se observó y contó el número total de parásitos adultos en intestino delgado al microscopio óptico de luz (Carl ZEISS Primo Star, modelo 3708. Carl Zeiss Microscopy GmgH 37081 Göttingen, GERMANY), a los objetivos 4x y 10x (Vallance et al. 1999, 2000).

9.13. Determinación de la implantación de L1 de *T. spiralis* en tejido muscular

Del grupo control (CITsp-5_{FM}) y de los grupos tratados con DEX (Tsp-DEX-1_{FM}, DEX-2_{FM}, DEX-3_{FM} y DEX-4_{FM}) y RTX (Tsp-RTX-1_{FM}, RTX-2_{FM}, RTX-3_{FM} y RTX-4_{FM}), sacrificados el día 28 p.i., se obtuvieron muestras de tejido muscular, tales como el masetero, lengua, pierna y diafragma (Pozio et al. 1999; Kapel et al. 2005), las cuales se colocaron entre dos placas de compresión, que constan de 2 portaobjetos, y se comprimieron para ser observadas al microscopio óptico de luz (Carl ZEISS Primo Star, modelo 3708. Carl Zeiss Microscopy GmgH 37081 Göttingen, GERMANY) a los objetivos 4x, 10x y 40x, observándose la presencia de células nodrizas. Para la determinación del número de L1 de *T. spiralis* implantadas en tejido muscular, se observaron 3 campos en un objetivo de 4x por muestra y se contó el número total de L1 de *T. spiralis* presentes por campo, posteriormente se promediaron los tres conteos, para

obtener el promedio de L1 de *T. spiralis* implantadas en el tejido muscular (Chávez et al. 2011; Muñoz-Carrillo et al. 2017).

9.14. Determinación de la carga parasitaria de *T. spiralis* en tejido muscular

Se obtuvo el tejido muscular de ratas y ratones de todos los grupos sacrificados el día 28 p.i. Posteriormente, se molió completamente el tejido muscular (con una moladora Oster® Modelo 3212). Después se tomaron porciones de 30 gramos de tejido muscular y se colocaron en un tamiz de tul en forma de saco, dentro de un embudo de separación, el cual contenía líquido de digestión artificial compuesto de 3% de pepsina (1: 10, 000), 7% de ácido clorhídrico al 37% (0.2 M) y 90% de agua destilada. Posteriormente se incubaron a 37° C durante 24 horas en una incubadora (THELCO, Model 4, Precision Scientific Co. Chicago U.S.A.). Trascurridas las 24 horas se procedió a separar los paquetes larvarios, los cuales se depositaron en el fondo del embudo, como resultado de la digestión, y se recuperaron en tubos cónicos de 15 mL. Posteriormente se realizaron tres lavados con PBS pH 7.3. Finalmente se determinó la carga parasitaria (García et al. 2012; Muñoz-Carrillo et al. 2017).

9.15. Determinación de la viabilidad de L1 de *T. spiralis*

Para evaluar la viabilidad de las L1 de *T. spiralis* se tomó de cada paquete larvario 15 µL de L1 de *T. spiralis* de los grupos control y tratados con DEX y RTX (de ratas Long-Evans) y se colocaron en un tubo eppendor de 200 µL, después se les agregó azul tripano al 2% (Colorante azul tripano I.C. 23850, 2 gramos; 100 mL de H₂O destilada) y se dejó reposar durante 15 minutos. Posteriormente, las muestras se observaron en un microscopio óptico de luz (Carl ZEISS Primo Star, modelo 3708. Carl Zeiss Microscopy GmgH 37081 Göttingen, GERMANY) a los objetivos de 4x, 10x y 40x para observar la viabilidad de las L1 de *T. spiralis*. El criterio utilizado para la viabilidad de L1 de *T. spiralis* fue la tinción por exclusión, tiñendo únicamente las L1 muertas (no viables), debido a que las L1 vivas (viables) no permiten el paso del colorante a su interior.

9.16. Infectividad de L1 de *T. spiralis*: reproducción de ciclo de vida de *T. spiralis* en ratones BALB/c

Para evaluar la infectividad de las L1 de *T. spiralis* tratadas con DEX y RTX, se reprodujo el ciclo de vida de *T. spiralis* en ratones BALB/c (ver infección experimental: modelo de ratón). Después de que todos los grupos de ratones se infectaron y se completó el ciclo de vida de *T. spiralis* (día 28 p.i.), se sacrificaron todos los animales y se determinó la carga parasitaria (Muñoz-Carrillo et al. 2017).

X. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Bioética y el Consejo Académico de la UACB-UAZ. Los animales fueron tratados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999), publicada por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) en el DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN en junio 28 del 2001.

XI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados son expresados como la media \pm la desviación estándar (D.E.). La significancia estadística se calculó por análisis de varianza (one-way-ANOVA) para la comparación de tres o más medias. Se utilizó la prueba de t-student para la comparación de dos muestras pareadas. Cuando el valor de $*p < 0.05$ se considera estadísticamente significativo. Se utilizó el software Graphpad PRISM para Windows versión 6 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA).

XII. RESULTADOS

12.1. Producción de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*

En este estudio se analizaron los niveles en suero de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. En las figuras 9 y 10 se observa que, a las 24 horas p.i., los niveles en suero de IL-12 (813 ± 36 pg/mL), INF- γ ($5,390 \pm 151$ pg/mL), IL-1 β ($2,310 \pm 143$ pg/mL) y TNF- α ($1,667 \pm 252$ pg/mL) incrementaron significativamente (* $p < 0.05$), comparados con el grupo CS (440 ± 22.3 pg/mL; $3,073 \pm 106$ pg/mL; $1,066 \pm 244$ pg/mL y 758 ± 24.7 pg/mL, respectivamente).

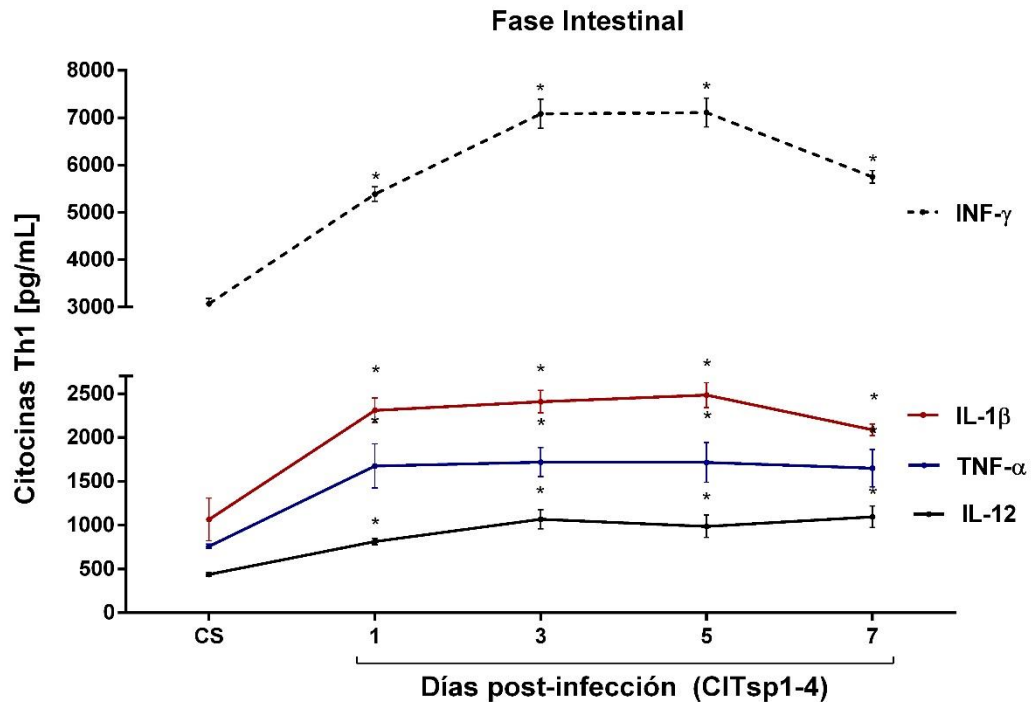


Figura 9. Liberación de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. Los niveles de IL-12 (línea negra), INF- γ (línea punteada), IL-1 β (línea roja) y TNF- α (línea azul) en suero de rata fueron determinados cuantitativamente por ELISA en los grupos CS, CITsp1-4; los días 1, 3, 5 y 7 p.i., respectivamente. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

El día 3 p.i., los niveles en suero de IL-12 ($1,068 \pm 110$ pg/mL), INF- γ ($7,086 \pm 310$ pg/mL), IL-1 β ($2,408 \pm 128$ pg/mL) y TNF- α ($1,719 \pm 167$ pg/mL) se mantuvieron

incrementados significativamente (* $p < 0.05$), comparados con el grupo CS. El día 5 p.i., se observó que los niveles en suero de IL-12 (987 ± 126 pg/mL), disminuyeron levemente, similar a los niveles en suero del día 3 p.i., mientras que los niveles en suero de INF- γ ($7,111 \pm 306$ pg/mL), IL-1 β ($2,484 \pm 142$ pg/mL) y TNF- α ($1,715 \pm 226$ pg/mL) permanecieron incrementados significativamente (* $p < 0.05$), comparados con el grupo CS.

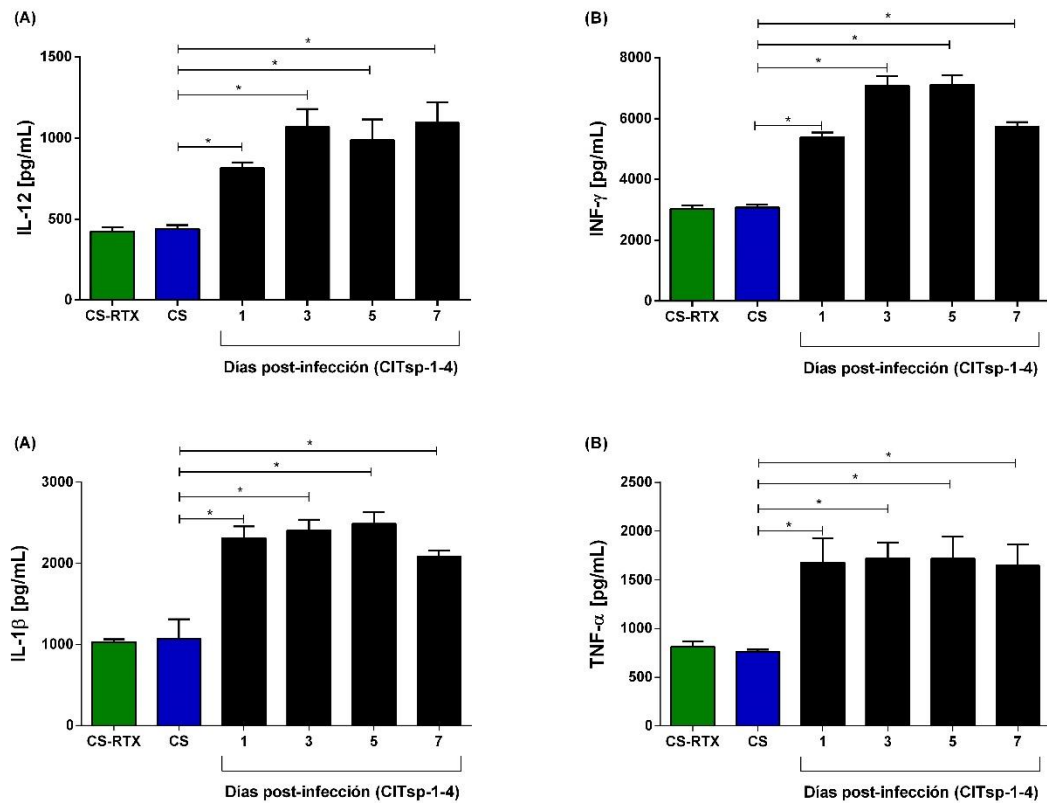


Figura 10. Producción de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. Los niveles de (A) IL-12, (B) INF- γ , (C) IL-1 β y (D) TNF- α en suero de rata fueron determinados cuantitativamente por ELISA en los grupos CS (barras azules), CS-RTX (barras verdes), CITsp-1-4 (barras negras); los días 1, 3, 5 y 7 p.i., respectivamente. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Finalmente, el día 7 p.i., se observó que los niveles en suero de INF- γ ($5,753 \pm 188$ pg/mL), IL-1 β ($2,088 \pm 67$ pg/mL) y TNF- α ($1,650 \pm 212$ pg/mL) disminuyeron levemente, pero al igual que los niveles en suero de IL-12 ($1,096 \pm 124$ pg/mL) se mantuvieron incrementados significativamente (* $p < 0.05$), comparados con el grupo CS.

Cuando se administró RTX al grupo CS-RTX, se observó que los niveles en suero de IL-12 (424 ± 25.6 pg/mL), INF- γ ($3,031 \pm 106$ pg/mL), IL-1 β ($1,028 \pm 35.4$ pg/mL) y TNF- α (813 ± 54.4 pg/mL) fueron similares al grupo CS (Figura 10A-D).

12.2. Producción de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*

Cuando se determinaron los niveles de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* (Figura 11), se observó que el día 1 p.i. los niveles en suero de IL-4 (34.9 ± 3.9 pg/mL), IL-10 ($7,962 \pm 933$ pg/mL) e IL-13 (191 ± 7.9 pg/mL), permanecieron similares a los niveles en suero del grupo CS (37.3 ± 2.5 pg/mL; $8,162 \pm 391$ pg/mL y 189 ± 8.4 pg/mL, respectivamente) (Figuras 12A-D).

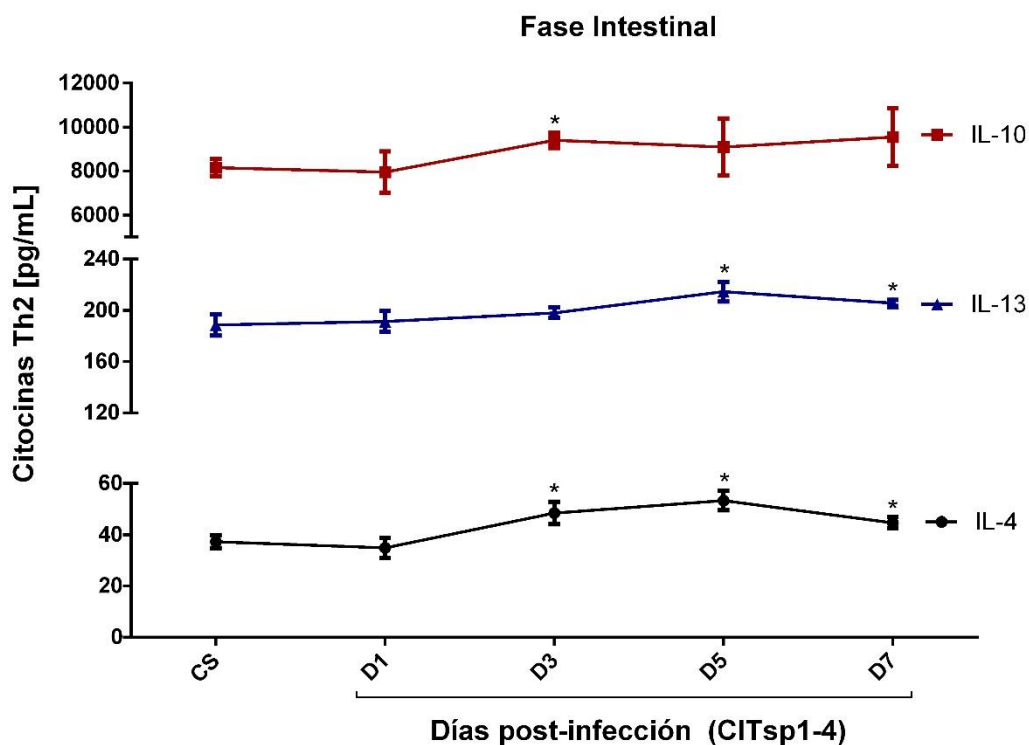


Figura 11. Liberación de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. Los niveles de IL-14 (línea negra), IL-10 (línea roja) e IL-13 (línea azul) en suero de rata fueron determinados cuantitativamente por ELISA en los grupos CS, CITsp-1-4; los días 1, 3, 5 y 7 p.i., respectivamente. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Finalmente, el día 7 p.i. se observó que los niveles en suero de IL-4 (44.7 ± 2.2 pg/mL) e IL-13 (206 ± 2.4 pg/mL), incrementaron significativamente (* $p < 0.05$), comparados con el grupo CS, mientras que los niveles en suero de IL-10 ($9,553 \pm 1,304$ pg/mL), permanecieron similares al día 5 p.i. Cuando se administró RTX al grupo CS-RTX, se observó que los niveles en suero de IL-4 (49.6 ± 3.6 pg/mL) e IL-13 (214 ± 9.8 pg/mL) incrementaron significativamente (* $p < 0.05$). Así mismo, los niveles en suero de IL-10 ($8,995 \pm 896$ pg/mL), también incrementaron, sin embargo, este incremento no fue significativo, comparados con el grupo CS (Fig. 12B-D).

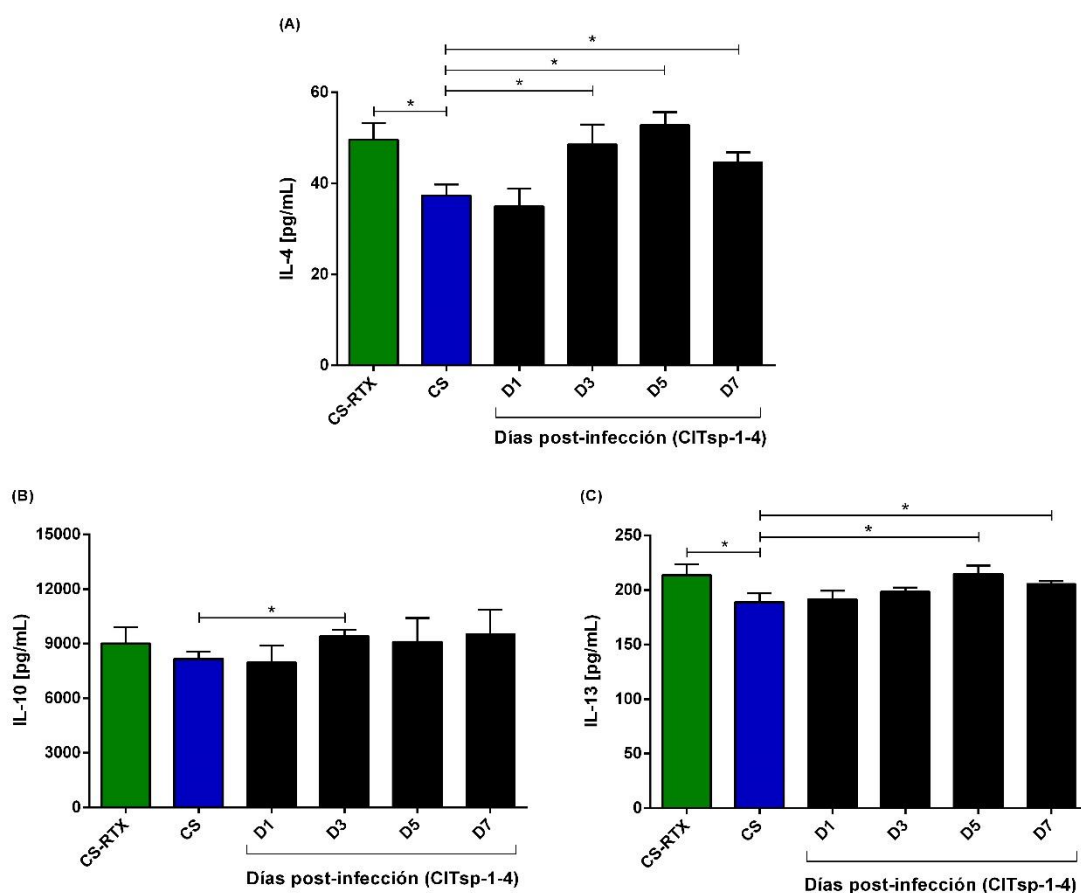


Figura 12. Producción de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. Los niveles de (A) IL-4, (B) IL-10 y (C) IL-13 en suero de rata fueron determinados cuantitativamente por ELISA en los grupos CS (barras azules), CS-RTX (barras verdes), CITsp-1-4 (barras negras), los días 1, 3, 5 y 7 p.i., respectivamente. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

12.3. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en la producción de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*

IL-12. En los grupos Tsp-RTX-1-4_{FI}, tratados con RTX, se observó que los niveles en suero de IL-12 disminuyeron significativamente (* $p < 0.05$) los días 1 p.i. (41.9 ± 7 pg/mL), 3 p.i. (91.8 ± 14.4 pg/mL), 5 p.i. (558 ± 49.8 pg/mL) y 7 p.i. (485 ± 69.8 pg/mL), comparado con los grupos CITsp-1, -2, -3 y -4, respectivamente (Figura 13A-D).

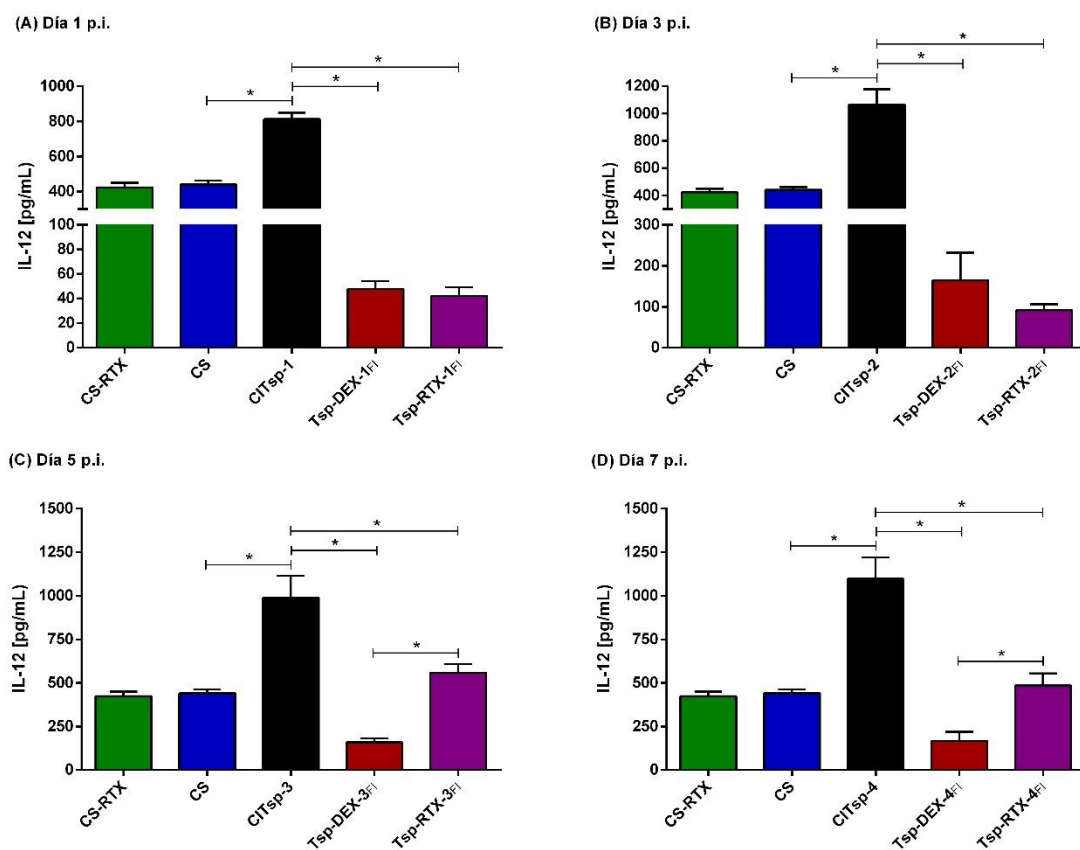


Figura 13. Niveles en suero de IL-12 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina.

Tratamientos con DEX y RTX: (A) una dosis el día 1 p.i.; (B) dos dosis los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los niveles en suero de IL-12 de los grupos CS-RTX (barras verdes), CS (barras azules), CITsp-1-4 (barras negras), Tsp-DEX-1-4_{FI} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FI} (barras moradas); fueron determinados cuantitativamente por ELISA. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

El tratamiento con DEX mostró niveles en suero de IL-12 similares al tratamiento con RTX los días 1 p.i. (47.6 ± 6.5 pg/mL) y 3 p.i. (164 ± 67.8 pg/mL); mientras que en los días 5 p.i. (159 ± 22.4 pg/mL) y 7 p.i. (167 ± 51.4 pg/mL), disminuyó significativamente los niveles en suero de IL-12 comparado con el tratamiento con RTX (Figura 13A-D).

INF- γ . Cuando se administró una dosis de RTX al grupo Tsp-RTX-1_{FI} el día 1 p.i., los niveles en suero de INF- γ ($5,318 \pm 174$ pg/mL) fueron similares a los del grupo CITsp-1_{FI} (Figura 14A).

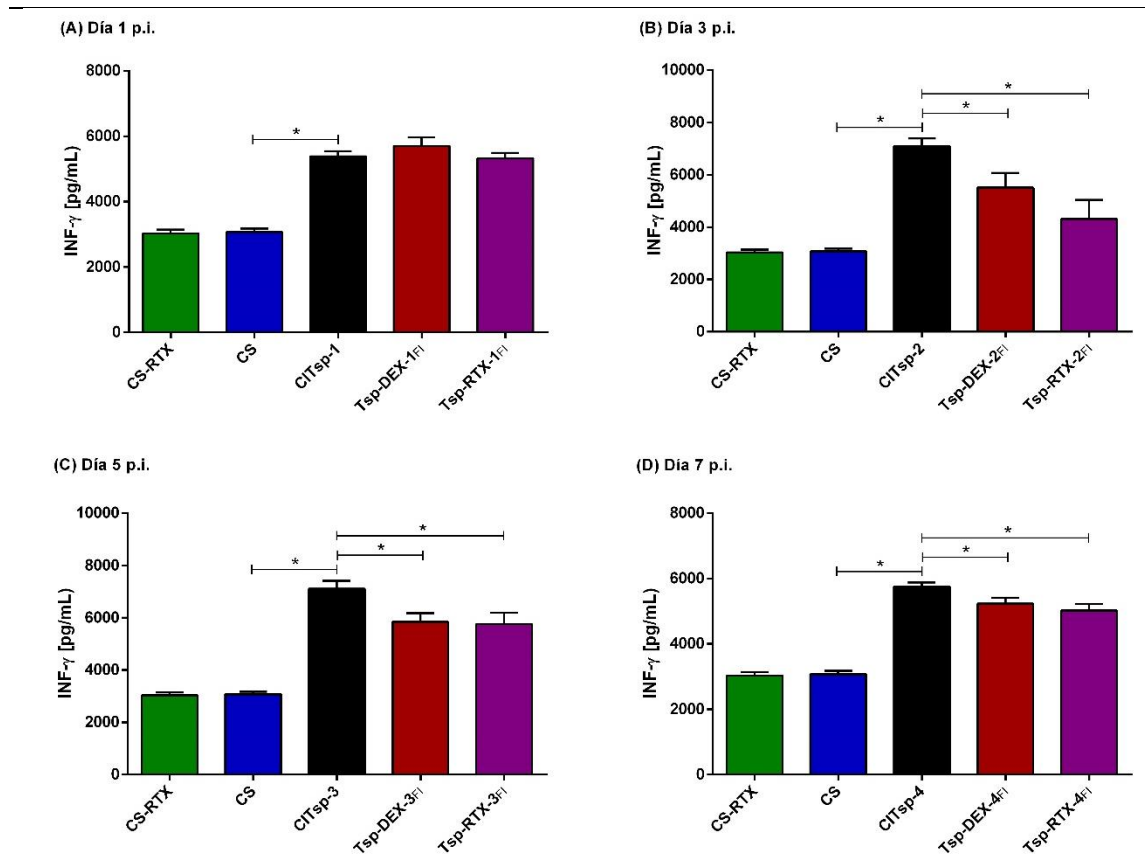


Figura 14. Niveles en suero de INF- γ en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina.

Tratamientos con DEX y RTX: (A) una dosis el día 1 p.i.; (B) dos dosis los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los niveles en suero de INF- γ de los grupos CS-RTX (barras verdes), CS (barras azules), CITsp-1-4 (barras negras); Tsp-DEX-1-4_{FI} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FI} (barras moradas), fueron determinados cuantitativamente por ELISA. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (*p<0.05).

En los grupos Tsp-RTX-2-4_{FI}, tratados con RTX, se observó que los niveles en suero de INF- γ disminuyeron significativamente (* $p < 0.05$) los días 3 p.i. ($4,316 \pm 719$ pg/mL), 5 p.i. ($5,761 \pm 432$ pg/mL) y 7 p.i. ($5,016 \pm 204$ pg/mL), similar a los grupos tratados con DEX, comparados con los grupos CITsp-2, -3 y -4, respectivamente (Figura 14B-D).

IL-1 β . En los grupos Tsp-RTX-1-4_{FI}, tratado con RTX, se observó que los niveles en suero de IL-1 β disminuyeron significativamente (* $p < 0.05$) los días 1 p.i. ($2,050 \pm 104$ pg/mL), 3 p.i. ($1,970 \pm 57.7$ pg/mL), 5 p.i. ($1,923 \pm 186$ pg/mL) y 7 p.i. ($1,863 \pm 42.5$ pg/mL), comparados con los grupos CITsp-1-4, respectivamente (Figura 15A-D).

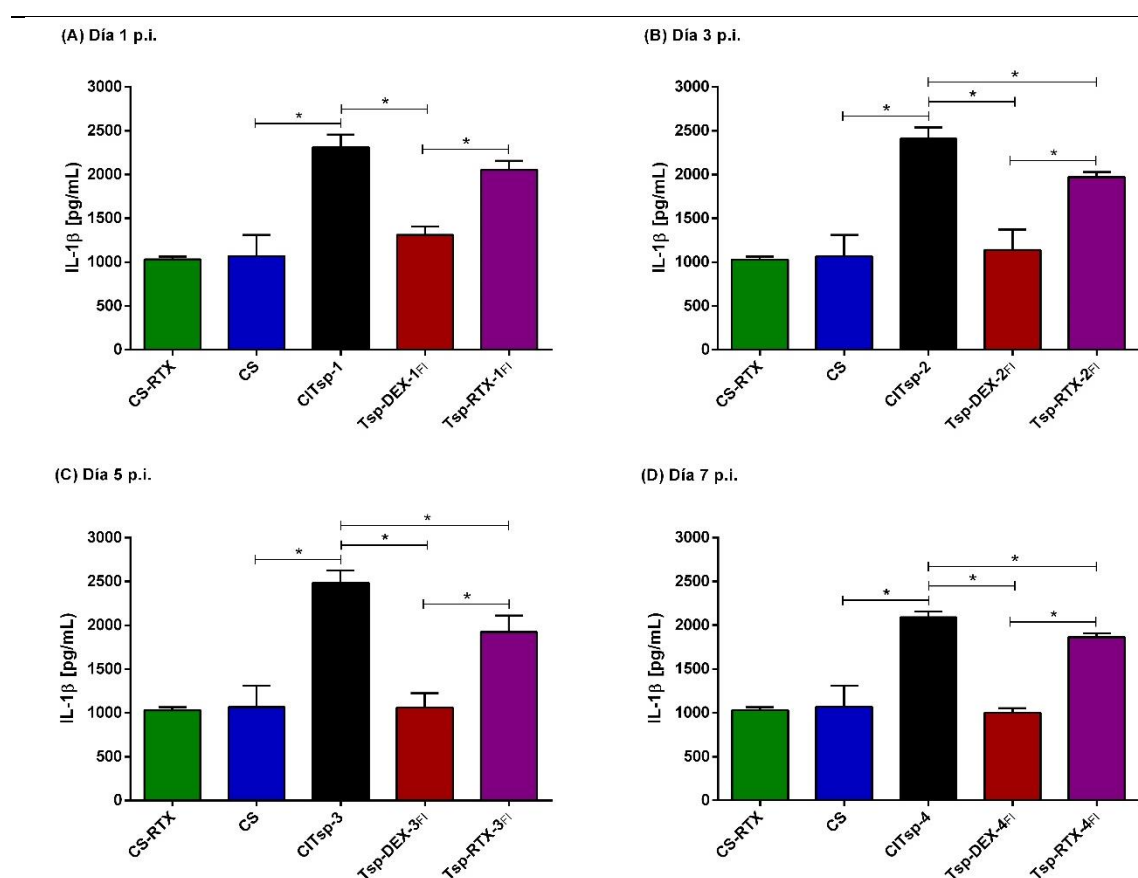


Figura 15. Niveles en suero de IL-1 β en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina.

Tratamientos con DEX y RTX: (A) una dosis el día 1 p.i.; (B) dos dosis los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los niveles en suero de IL-1 β de los grupos CS-RTX (barras verdes), CS (barras azules), CITsp-1-4 (barras negras), Tsp-DEX-1-4_{FI} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FI} (barras moradas), fueron determinados cuantitativamente por ELISA. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Cuando se administró DEX, se observó que los niveles en suero de IL-1 β disminuyeron significativamente (* p <0.05) los días 1 p.i. (1, 310 \pm 97.7 pg/mL), 3 p.i. (1, 138 \pm 234 pg/mL), 5 p.i. (1, 060 \pm 136 pg/mL) y 7 p.i. (1, 002 \pm 50.1 pg/mL), comparados con grupos tratados con RTX (Figura 15A-D).

TNF- α . En los grupos Tsp-RTX-1-4_{FI}, tratados con RTX, se observó que los niveles en suero de TNF- α disminuyeron significativamente (* p <0.05) los días 1 p.i. (1, 387 \pm 103 pg/mL), 3 p.i. (1, 409 \pm 106 pg/mL), 5 p.i. (1, 229 \pm 72.4 pg/mL) y 7 p.i. (1, 120 \pm 70.1 pg/mL), comparados con los grupos CITsp-1-4, respectivamente (Figura 16A-D).

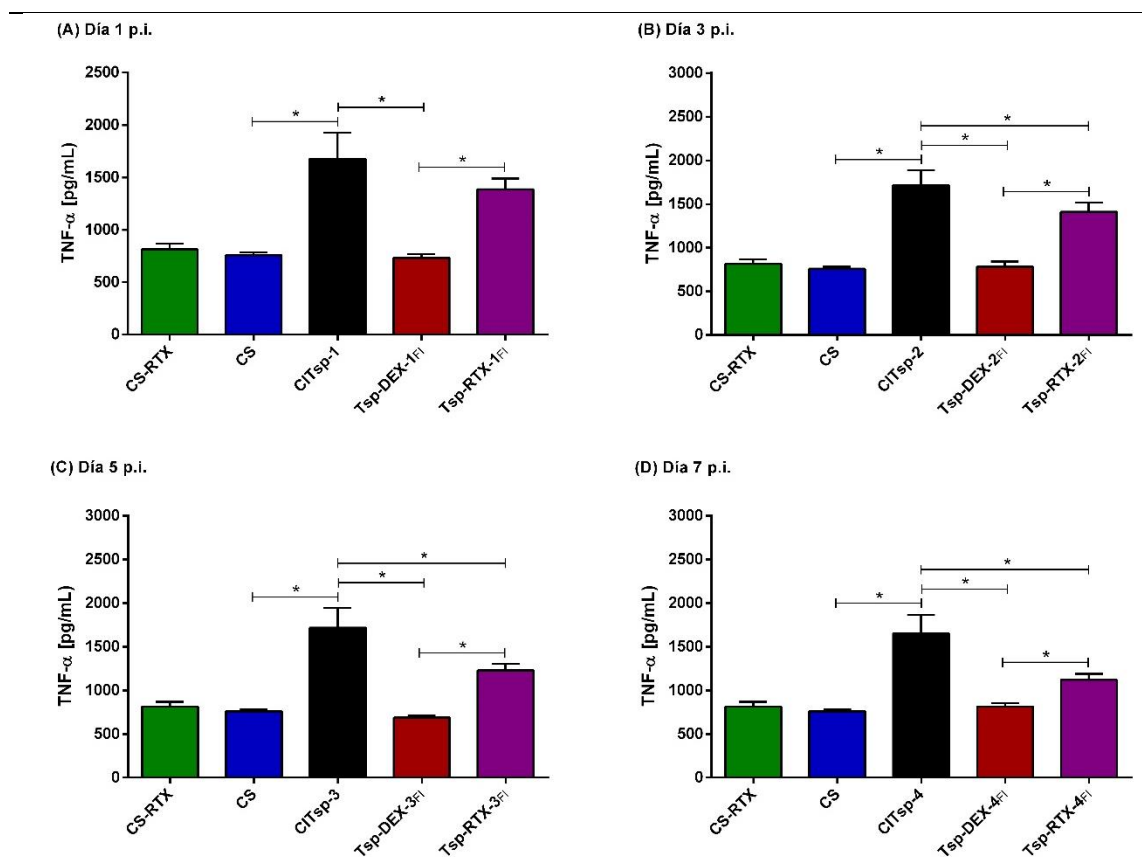


Figura 16. Niveles en suero de TNF- α en ratas tratadas con dexametasona y resiquimatoxina.

Tratamientos con DEX y RTX: (A) una dosis el día 1 p.i.; (B) dos dosis los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los niveles en suero de TNF- α de los grupos CS-RTX (barras verdes), CS (barras azules), CITsp-1-4 (barras negras), Tsp-DEX-1-4_{FI} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FI} (barras moradas), fueron determinados cuantitativamente por ELISA. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* p <0.05).

El tratamiento con DEX, disminuyó significativamente (* $p < 0.05$) los niveles en suero de TNF- α el día 1 p.i. (732 ± 38.4 pg/mL), 3 p.i. (780 ± 60.1 pg/mL), 5 p.i. (686 ± 23 pg/mL) and 7 p.i. (814 ± 40.1 pg/mL), comparado con el tratamiento con RTX (Figura 16A-D).

12.4. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en la producción de citocinas Th2 durante la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*

IL-4. EL grupo Tsp-RTX-1_{FI}, tratado con RTX el día 1 p.i., mostró niveles en suero de IL-4 (41.9 ± 7.0 pg/mL) similares al grupo CITsp-1 (Figura 17A).

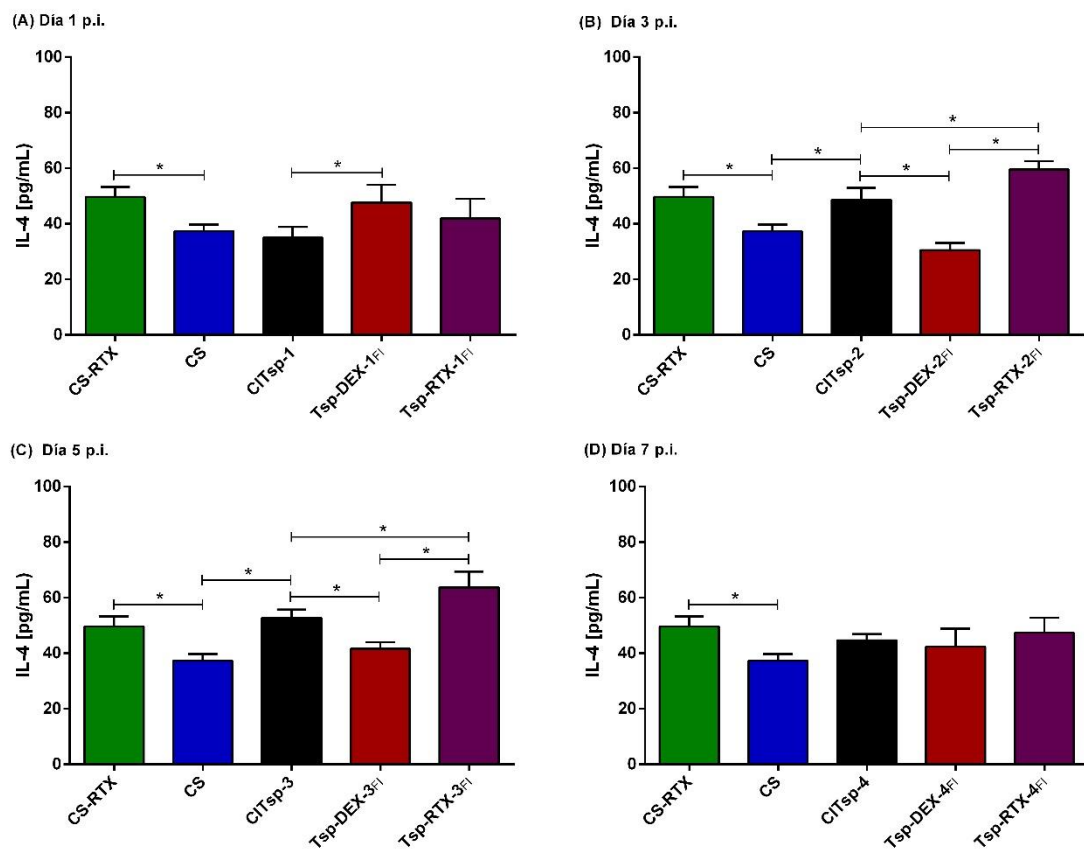


Figura 17. Niveles en suero de IL-4 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina.

Tratamientos con DEX y RTX con (A) una dosis el día 1 p.i.; (B) dos dosis los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los niveles en suero de IL-4 de los grupos CS-RTX (barras verdes), CS (barras azules), CITsp-1-4 (barras negras), Tsp-DEX-1-4_{FI} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FI} (barras moradas), fueron determinados cuantitativamente por ELISA. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Al administrar DEX, se observó un incremento significativo (* $p < 0.05$) de los niveles en suero de IL-4 (47.6 ± 6.5 pg/mL), comparados con el grupo CITsp-1. Sin embargo, no se observó una diferencia significativa entre los tratamientos con RTX y DEX (Figura 17A). De manera similar, se observó que en los grupos Tsp-RTX-2_{FI} y Tsp-RTX-3_{FI} tratados con RTX los días 3 y 5 p.i., los niveles en suero de IL-4 (59.5 ± 3.0 pg/mL y 63.6 ± 5.7 pg/mL, respectivamente) incrementaron significativamente (* $p < 0.05$), comparados con los grupos CITsp-2 y CITsp-3, respectivamente (Figura 17B y C).

Por otro lado, en los grupos Tsp-DEX-2_{FI} y Tsp-DEX-3_{FI}, tratados con DEX, se observó que en los días 3 y 5 p.i., los niveles en suero de IL-4 (30.4 ± 2.6 pg/mL y 41.6 ± 2.3 pg/mL, respectivamente) disminuyeron significativamente (* $p < 0.05$), comparados con los grupos CITsp-2 y CITsp-3, respectivamente (Figura 17B y C).

Finalmente, en los grupos Tsp-RTX-4_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI} tratados con RTX y DEX, respectivamente, se observó que el día 7 p.i. mostraron niveles basales de IL-4 en suero similares a los grupos CITsp-4 y CS (Figura 17D).

IL-10. En los grupos Tsp-RTX-1_{FI} y Tsp-RTX-3_{FI}, tratados con RTX, se observó que en los días 1 y 5 p.i. los niveles en suero de IL-10 ($13,203 \pm 1,210$ pg/mL y $15,062 \pm 475$ pg/mL; respectivamente) incrementaron significativamente (* $p < 0.05$), comparados con los grupos CITsp-1 y CITsp-3, así como con los grupos Tsp-DEX-1_{FI} ($8,037 \pm 363$ pg/mL) y Tsp-DEX-3_{FI} ($9,020 \pm 726$ pg/mL) tratados con DEX, respectivamente (Figura 18A y C).

Mientras que en los grupos Tsp-RTX-2_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}, tratados con RTX, se observó que los días 3 y 7 p.i. los niveles en suero de IL-4 ($10,220 \pm 1,554$ pg/mL y $9,295 \pm 1,017$ pg/mL) fueron similares a los grupos CITsp-2 y CITsp-4, así como a los grupos Tsp-DEX-2_{FI} ($9,253 \pm 615$ pg/mL) y Tsp-DEX-4_{FI} ($9,737 \pm 911$ pg/mL) tratados con DEX, respectivamente (Figura 18B y D).

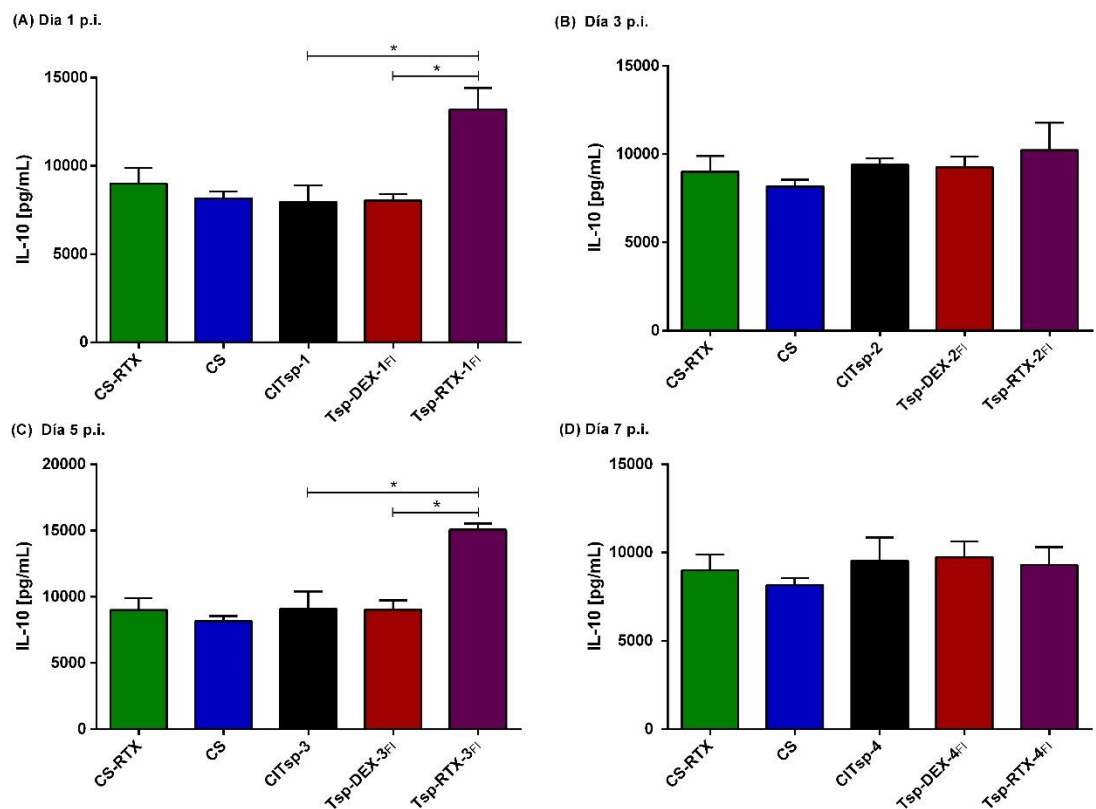


Figura 18. Niveles en suero de IL-10 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina.

Tratamientos con DEX y RTX: (A) una dosis el día 1 p.i.; (B) dos dosis los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los niveles en suero de IL-10 de los grupos CS-RTX (barras verdes), CS (barras azules), CITsp-1-4 (barras negras), Tsp-DEX-1-4_{FI} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FI} (barras moradas), fueron determinados cuantitativamente por ELISA. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

IL-13. En los grupos Tsp-RTX-1_{FI} y Tsp-RTX-2_{FI}, tratados con RTX, se observó que los días 1 y 3 p.i. los niveles en suero de IL-13 (187 ± 25.3 pg/mL y 176 ± 6.8 pg/mL, respectivamente) fueron similares a los grupos CITsp-1 y CITsp-2, respectivamente (Figura 19A y B). Mientras que los grupos Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}, tratados con RTX, se observó que los días 5 y 7 p.i. los niveles en suero de IL-13 (232 ± 6.4 pg/mL y 223 ± 9.8 pg/mL) incrementaron significativamente (* $p < 0.05$), comparados con los grupos CITsp-3 y CITsp-4, respectivamente (Figura 19C y D). Con respecto a los grupos tratados con DEX, únicamente, los grupos Tsp-DEX-1_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI} mostraron un incremento significativo (* $p < 0.05$) de los niveles en suero de IL-13 el día 1 p.i. (217 ± 6.4

pg/mL) y 7 p.i. (239 ± 12.2 pg/mL), comparados con los grupos CITsp-1 y CITsp-4, respectivamente (Figura 19A y D).

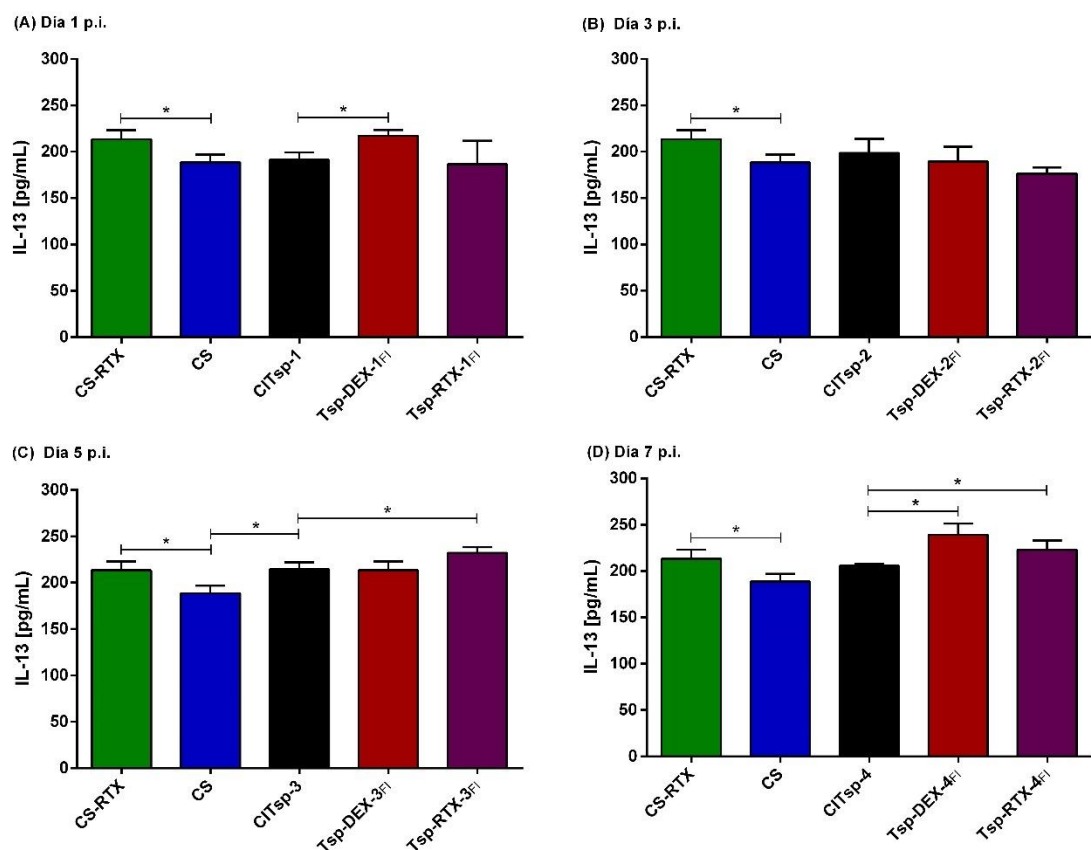


Figura 19. Niveles en suero de IL-13 en ratas tratadas con dexametasona y resiniferatoxina.

Tratamientos con DEX y RTX: (A) una dosis el día 1 p.i.; (B) dos dosis los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los niveles en suero de IL-13 de los grupos CS-RTX (barras verdes), CS (barras azules), CITsp-1-4 (barras negras), Tsp-DEX-1-4_{FI} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FI} (barras moradas), fueron determinados cuantitativamente por ELISA. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (*p<0.05).

12.5. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el porcentaje de eosinófilos en sangre durante la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*

En la figura 20B se observa que durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* el porcentaje de eosinófilos en sangre incrementó significativamente (*p<0.05) el día 1 p.i. (5 ± 1 %Eos, grupo CITsp-1), día 3 p.i. (7 ± 1 %Eos, grupo CITsp-2), día 5 p.i. (8 ± 1.4

%Eos, grupo CITsp-3) y día 7 p.i. (12 ± 1.6 %Eos, grupo CITsp-4), mientras que el porcentaje de eosinófilos en sangre del grupo CS-RTX (0.8 ± 0.2 %Eos), disminuyó significativamente (* $p < 0.05$), comparado con el grupo CS (2 ± 0.2 %Eos).

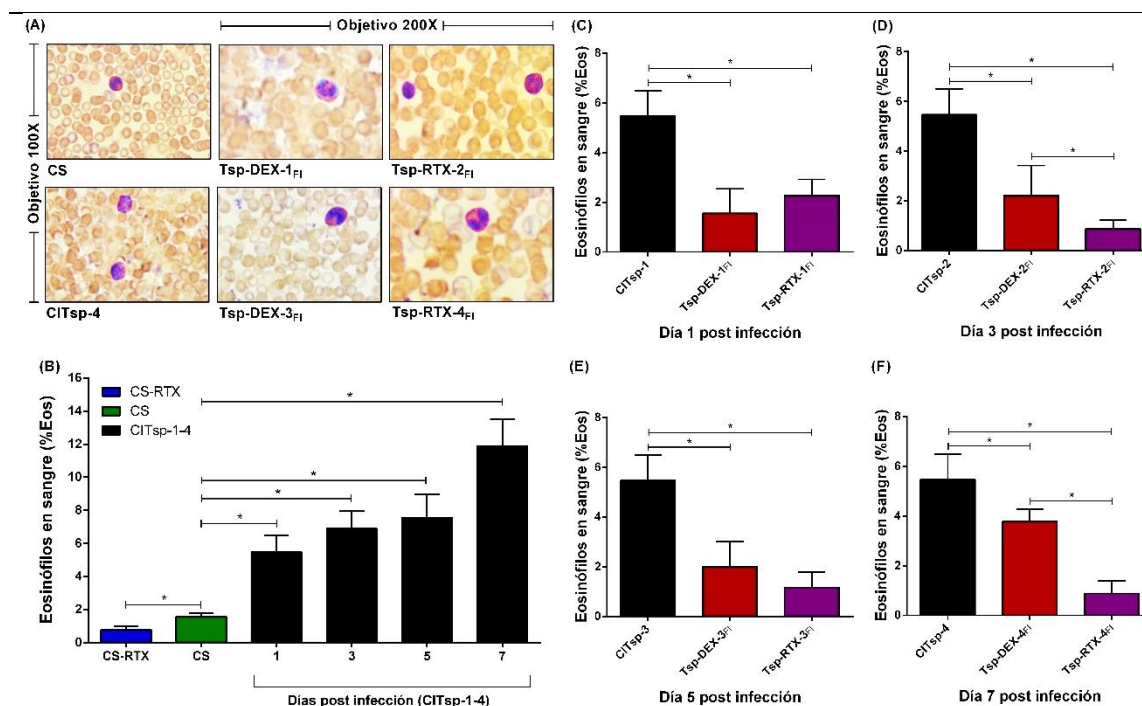


Figura 20. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre el porcentaje de eosinófilos en sangre.

(A) Fotomicrografías de eosinófilos en sangre de los grupos CS (100x), CITsp-4 (día 7 p.i., 100x), Tsp-DEX-1_{FI} (día 1 p.i., 200x), Tsp-DEX-3_{FI} (día 5 p.i., 200x), Tsp-RTX-2_{FI} (día 3 p.i., 200x) y Tsp-RTX-4_{FI} (día 7 p.i., 200x). (B) Porcentaje de eosinófilos en sangre durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. Grupo CS (barra verde), grupos CITsp-1-4 (barras negras) y grupo HC-RTX (barra azul). (C) Porcentaje de eosinófilos en sangre el día 1 p.i., tratamiento con DEX (barras rojas) y RTX (barras moradas) con una dosis el día 1 p.i. (D) Porcentaje de eosinófilos en sangre el día 3 p.i., tratamiento con DEX y RTX con dos dosis los días 1 y 3 p.i. (E) Porcentaje de eosinófilos en sangre el día 5 p.i., tratamiento con DEX y RTX con tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i. (F) Porcentaje de eosinófilos en sangre el día 7 p.i., tratamiento con DEX y RTX con tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Cuando se administró RTX a los grupos Tsp-RTX-1-4_{FI}, se observó que el porcentaje de eosinófilos en sangre disminuyó significativamente (* $p < 0.05$) el día 1 p.i. (2 ± 0.7 %Eos), día 3 p.i. (0.9 ± 0.3 %Eos), día 5 p.i. (1 ± 0.6 %Eos) y día 7 p.i. (0.9 ± 0.5 %Eos), comparados con los grupos CITsp-1-4, respectivamente. Cuando se administró DEX, a

los grupos Tsp-DEX-1-4_{FI}, se observó que el porcentaje de eosinófilos en sangre fue similar al tratamiento con RTX los días 1 p.i. (1.5 ± 0.9 %Eos) and 5 p.i. (2 ± 1 %Eos), mientras que los días 3 p.i. (2.2 ± 1.2 %Eos) y 7 p.i. (3.7 ± 0.5 %Eos).

12.6. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de eosinófilos en intestino delgado en la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*

En la figura 21 se observa que el número de eosinófilos en intestino delgado incremento significativamente (* $p < 0.05$) el día 3 p.i. (31 ± 3 Eos/UAID, grupo CITsp-1), día 5 p.i.

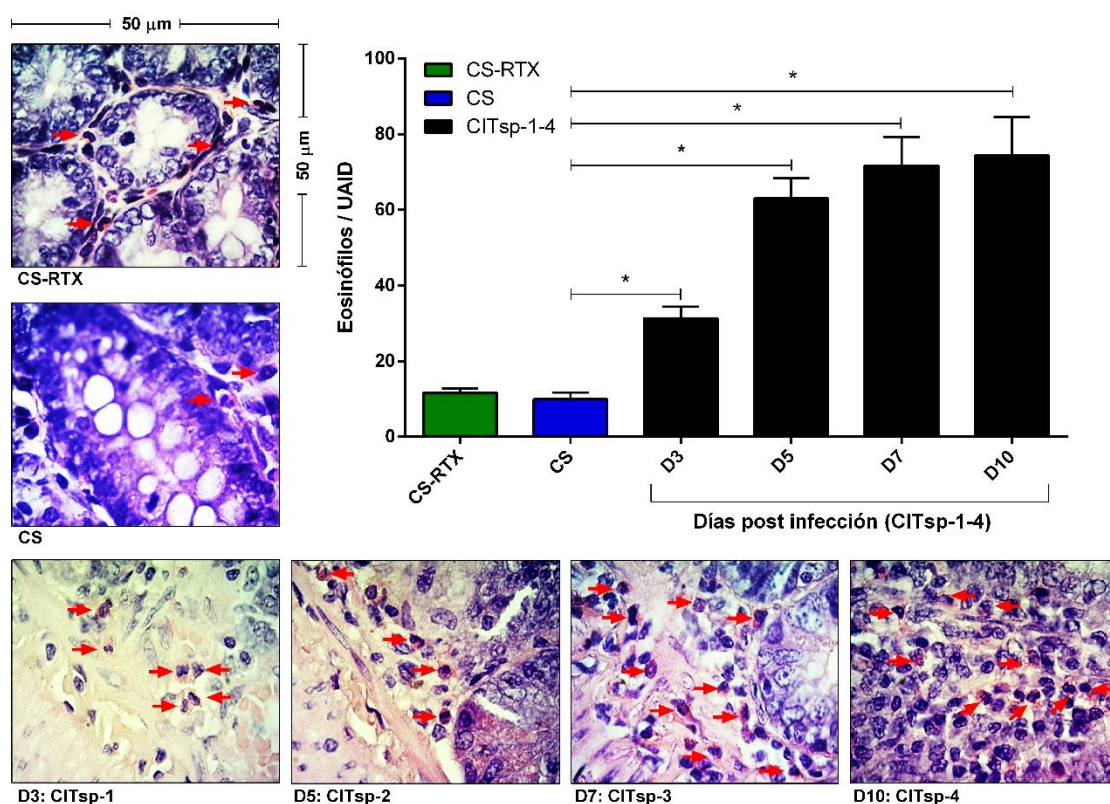


Figura 21. Número de eosinófilos en intestino delgado durante la fase intestinal de la infección por

T. spiralis. En la gráfica se muestran los grupos CS-RTX (barra verde), CS (barra azul), CITsp-1-4 (barras negras). Se muestran las fotomicrografías de los grupos CS-RTX, CS, CITsp-1-4, los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente; a un objetivo de 100x de magnificación, bajo el microscopio óptico de luz. Las flechas rojas indican la presencia de eosinófilos en tejido intestinal. Los resultados son expresados como el número de eosinófilos por UAID: $62, 500 \mu m^2$ a 100x de magnificación. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

(63 ± 5 Eos/UAID, grupo CITsp-2), día 7 p.i. (72 ± 8 Eos/UAID, grupo CITsp-3) y día 10 p.i. (74 ± 10 Eos/UAID, grupo CITsp-4), comparados con el grupo CS (10 ± 2 Eos/UAID). Con respecto al grupo CS-RTX, se observó que el número de eosinófilos en intestino delgado (12 ± 1 Eos/UAID) fue similar al grupo CS.

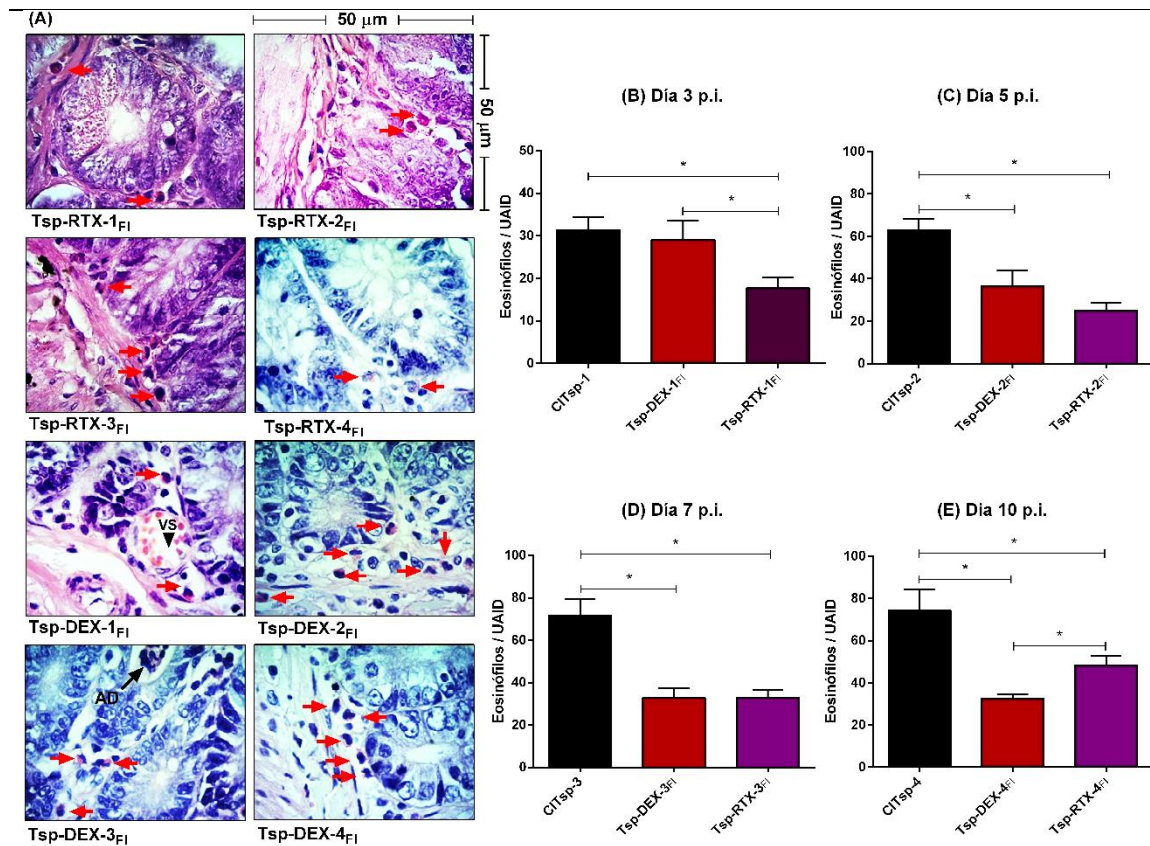


Figura 22. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de eosinófilos en intestino delgado. (A) Fotomicrografías de eosinófilos en intestino delgado de los grupos tratados con RTX (Tsp-RTX-1-4FI) y DEX (Tsp-DEX-1-4FI) a un objetivo de 100x de magnificación, bajo el microscopio óptico de luz. Las flechas rojas indican la presencia de eosinófilos. En la gráfica se muestran los grupos CITsp-1-4 (barras negras). (B) Número de eosinófilos en intestino delgado el día 3 p.i., tratamiento con DEX (barras rojas) y RTX (barras moradas) con una dosis el día 1 p.i. (C) Número de eosinófilos en intestino delgado el día 5 p.i., tratamiento con DEX y RTX con dos dosis los días 1 y 3 p.i. (D) Número de eosinófilos en intestino delgado el día 7 p.i., tratamiento con DEX y RTX con tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i. (E) Número de eosinófilos en intestino delgado el día 10 p.i., tratamiento con DEX y RTX con tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los resultados son expresados como el número de eosinófilos por UAID: 62, 500 μm² a 100x de magnificación. AD: Hembra Adulta de *T. spiralis*. VS: vaso sanguíneo. Los valores son representados como la media ± D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (*p<0.05).

Cuando se administró RTX a los grupos Tsp-RTX-1-4_{FI}, se observó que el número de eosinófilos en intestino delgado disminuyó significativamente (* $p < 0.05$) el día 3 p.i. (18 ± 3 Eos/UAID), día 5 p.i. (25 ± 4 Eos/UAID), día 7 p.i. (33 ± 4 Eos/UAID) y día 10 p.i. (48 ± 5 Eos/UAID), comparados con los grupos CITsp-1-4, respectivamente (Figura 22B-E). Al administrar DEX al grupo Tsp-DEX-1_{FI}, se observó que el día 3 p.i. el número de eosinófilos en intestino delgado (29 ± 6 Eos/UAID) fueron similares al grupo CITsp-1. Mientras que en los grupos Tsp-DEX-2-4_{FI} tratados con DEX, se observó que el número de eosinófilos en intestino delgado disminuyó significativamente (* $p < 0.05$) el día 5 p.i. (37 ± 7 Eos/UAID), día 7 p.i. (33 ± 5 Eos/UAID) y día 10 p.i. (33 ± 2 Eos/UAID), comparados con los grupos CITsp-2-4, respectivamente (Figura 22B-E).

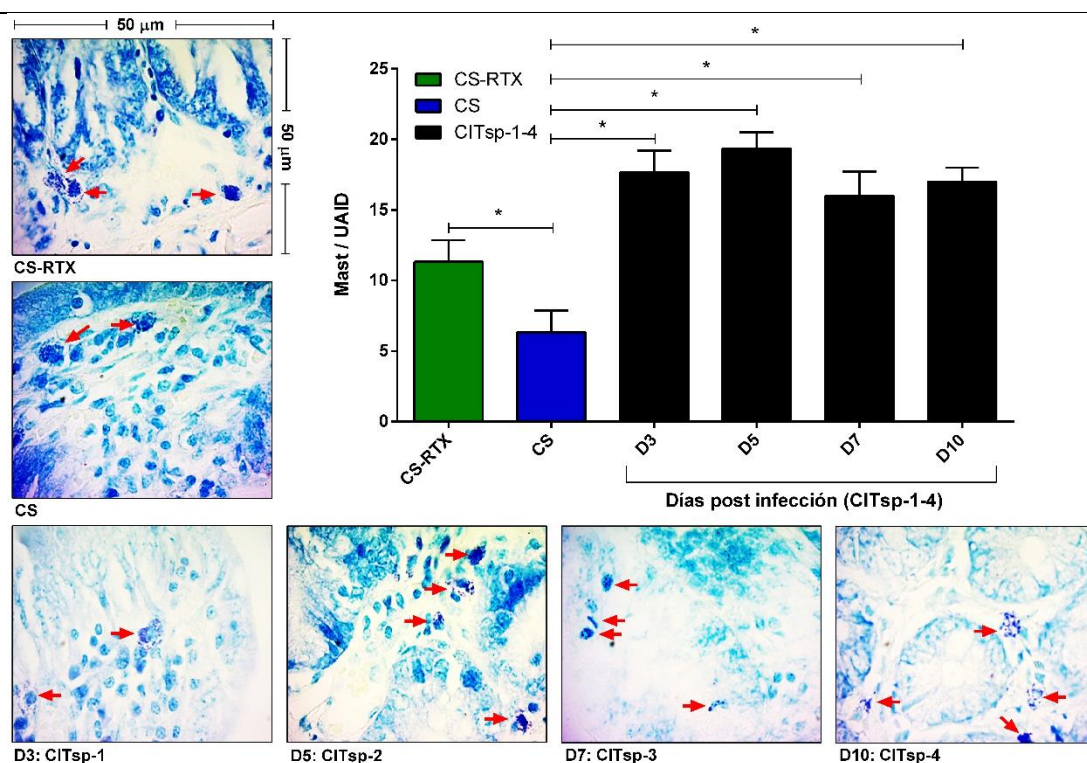


Figura 23. Número de mastocitos en intestino delgado durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. En la gráfica se muestran los grupos CS-RTX (barra verde), CS (barra azul), CITsp-1-4 (barras negras). Se muestran las fotomicrografías de los grupos CS-RTX, CS, CITsp-1-4, los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente, a un objetivo de 100x de magnificación, bajo el microscopio óptico de luz. Las flechas rojas indican la presencia de mastocitos en tejido intestinal. Los resultados son expresados como el número de mastocitos por UAID: 62, 500 μm^2 a 100x de magnificación. Mast: mastocitos. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

12.7. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de mastocitos en intestino delgado en la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis*

En la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* el número de mastocitos en intestino delgado incrementó significativamente (* $p < 0.05$) el día 3 p.i. (18 ± 2 Mast/UAID, grupo

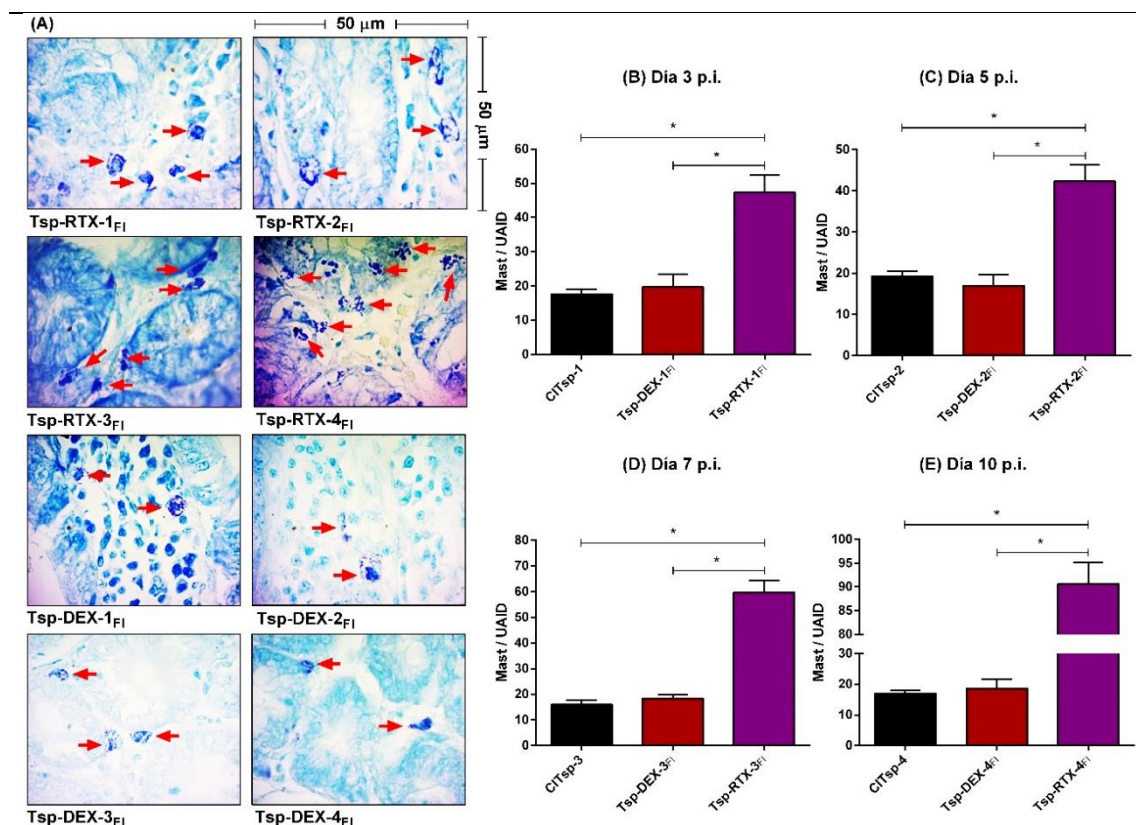


Figura 24. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina en el número de mastocitos en intestino delgado. (A) Fotomicrografías de mastocitos en intestino delgado de los grupos tratados con RTX (Tsp-RTX-1-4FI) y DEX (Tsp-DEX-1-4FI) a un objetivo de 100x de magnificación, bajo el microscopio óptico de luz. Las flechas rojas indican la presencia de mastocitos. En la gráfica se muestran los grupos CITsp-1-4 (barras negras). (B) Número de mastocitos en intestino delgado el día 3 p.i en ratas tratadas con DEX (barras rojas) y RTX (barras moradas) con una dosis el día 1 p.i. (C) Número de mastocitos en intestino delgado el día 5 p.i en ratas tratadas con DEX y RTX con dos dosis los días 1 y 3 p.i. (D) Número de mastocitos en intestino delgado el día 7 p.i en ratas tratadas con DEX y RTX con tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i. (E) Número de mastocitos en intestino delgado el día 10 p.i en ratas tratadas con DEX y RTX con tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los resultados son expresados como el número de mastocitos por UAID: 62, 500 μ m² a 100x de magnificación. Mast: mastocitos. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

CITsp-1) día 5 p.i. (19 ± 1 Mast/UAID, grupo CITsp-2), día 7 p.i. (16 ± 2 Mast/UAID, grupo CITsp-3) y día 10 p.i. (17 ± 1 Mast/UAID, grupo CITsp-4). De manera similar, en el grupo CS-RTX, se observó un aumento significativo (* $p < 0.05$) en el número de mastocitos (11 ± 2 Mast/UAID); comparados con el grupo CS (6 ± 2 Mast/UAID) (Figura 23). Cuando se administró RTX a los grupos Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}, se observó que el número de mastocitos en intestino delgado incremento significativamente (* $p < 0.05$) el día 3 p.i. (47 ± 5 Mast/UAID), día 5 p.i. (42 ± 4 Mast/UAID), día 7 p.i. (60 ± 5 Mast/UAID) y día 10 p.i. (91 ± 5 Mast/UAID), comparados con los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, respectivamente. Sin embargo, cuando se administró DEX a los grupos Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}, se observó que los días 3p.i. (18 ± 4 Mast/UAID), 5 p.i. (17 ± 3 Mast/UAID), 7 p.i. (18 ± 2 Mast/UAID) y 10 p.i. (19 ± 3 Mast/UAID) el número de mastocitos en intestino delgado fueron similares a los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, respectivamente (Figura 24B-E).

12.8. Efecto de la resiniferatoxina sobre la expulsión de parásitos adultos de *Trichinella spiralis* del intestino delgado durante la fase intestinal de la infección

Durante el ciclo de vida de *T. spiralis*, al inicio de la fase intestinal, una vez que las L1 invaden el intestino delgado, tardan aproximadamente 48 horas en madurar a un estadio adulto, diferenciándose de L1 a parásitos adultos hembra y macho (Moreno *et al.*, 2009; Theodoropoulos y Petrakos 2010). En la figura 25 se observa que a las 72 horas p.i. (día 3 p.i., grupo CITsp-1), se encontraron 474 ± 35 parásitos adultos de *T. spiralis*, similar a la dosis de infección inicial, 500 L1 de *T. spiralis*. Sin embargo, para el día 5 p.i. (grupo CITsp-2) se observó que el número de parásitos adultos de *T. spiralis* (268 ± 32 parásitos adultos de *T. spiralis*) disminuyó significativamente (* $p < 0.05$), comparado con el día 3 p.i., observándose la expulsión de parásitos adultos de *T. spiralis* del intestino delgado. Posteriormente, los días 7 p.i. (227 ± 30 parásitos adultos de *T. spiralis*) y 10 p.i. (210 ± 40 parásitos adultos de *T. spiralis*) se observó un decremento significativo (* $p < 0.05$) del número de parásitos adultos de *T. spiralis* del intestino delgado, comparados con el día 3 p.i. (Figura 25).

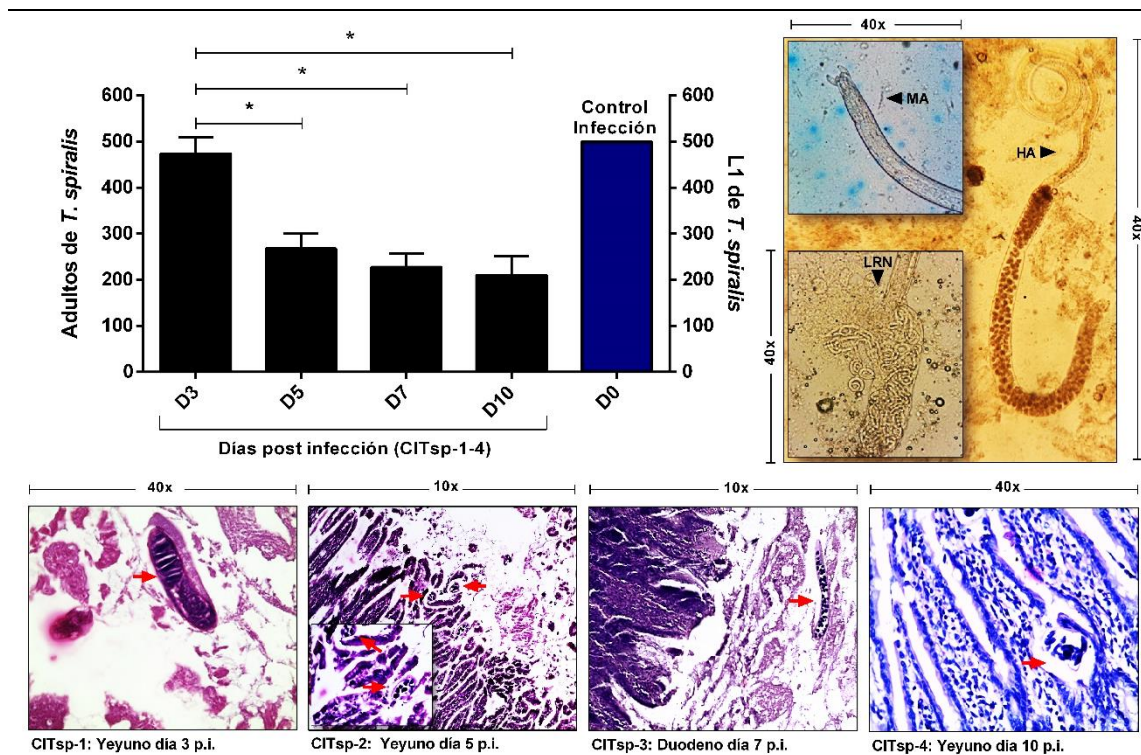


Figura 25. Número de parásitos adultos de *T. spiralis* en intestino delgado durante la fase intestinal de la infección. En la gráfica se muestran los grupos CITsp-1-4 (barras negras). La barra azul representa las 500 L1 de *T. spiralis* con las que se infectaron los grupos CITsp-1-4. Se muestran las fotomicrografías de los grupos CITsp-1-4 los días 3, 5, 7 y 10 p.i., respectivamente, a diferentes objetivos 10x y 40x. MA: macho adulto, HA: hembra adulto. LRN: larva recién nacida. Las flechas rojas indican la presencia de adultos de *T. spiralis* en intestino delgado. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Cuando se administró DEX a los grupos, se observó un retraso significativo en la expulsión de los parásitos adultos de *T. spiralis* del intestino delgado. El día 3 p.i., se observó que el grupo Tsp-DEX-1_{FI} (451 ± 75 parásitos adultos de *T. spiralis*) presentó un número similar de parásitos adultos de *T. spiralis* al compararlo con el grupo CITsp-1. Mientras que en los grupos Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-1_{FI}, se observó que en los días 5 p.i. (436 ± 52 parásitos adultos de *T. spiralis*), 7 p.i. (461 ± 76 parásitos adultos de *T. spiralis*) y 10 p.i. (500 ± 25 parásitos adultos de *T. spiralis*) incrementó significativamente (* $p < 0.05$) el número de parásitos adultos de *T. spiralis*, comparado con los grupos CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, respectivamente (Figura 26B-E).

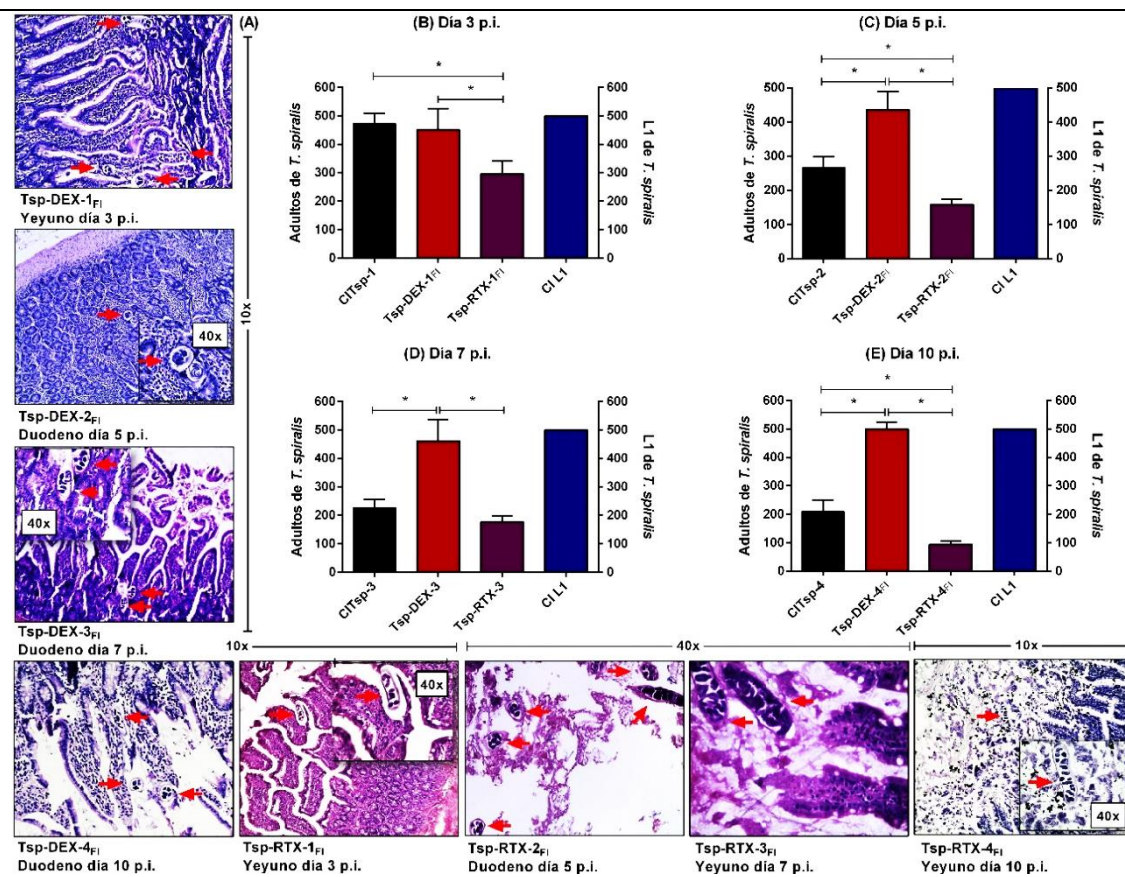


Figura 26. Efecto de la resiniferatoxina sobre la expulsión de parásitos adultos de *T. spiralis*. (A)

Fotomicrografías del intestino delgado de los grupos tratados con RTX (Tsp-RTX-1-4_{FI}) y DEX (Tsp-DEX-1-4_{FI}), a unos objetivos de 10x y 40x. Las flechas rojas indican la presencia de parásitos adultos de *T. spiralis*. En las gráficas se muestran los grupos CITsp-1-4 (barras negras). (B) Número de parásitos adultos de *T. spiralis* en intestino delgado el día 3 p.i., tratamiento con DEX (barras rojas) y RTX (barras moradas) con una dosis el día 1 p.i. (C) Número de parásitos adultos de *T. spiralis* en intestino delgado el día 5 p.i., tratamiento con DEX y RTX con dos dosis los días 1 y 3 p.i. (D) Número de parásitos adultos de *T. spiralis* en intestino delgado el día 7 p.i., tratamiento con DEX y RTX con tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i. (E) Número de parásitos adultos de *T. spiralis* en intestino delgado el día 10 p.i., tratamiento con DEX y RTX con tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Por otro lado, cuando se administró RTX a los grupos Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}, se observó un decremento significativo (* $p < 0.05$) del número de parásitos adultos de *T. spiralis* del intestino delgado los días 3 p.i. (296 ± 45 parásitos adultos de *T. spiralis*), 5 p.i. (158 ± 17 parásitos adultos de *T. spiralis*), 7 p.i. (176 ± 21 parásitos adultos de *T. spiralis*) y 10 p.i. (95 ± 13 parásitos adultos de *T. spiralis*),

comparados con los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4, respectivamente. De manera similar, en los grupos tratados con RTX, se observó un decremento significativo (*p<0.05) del número de parásitos adultos de *T. spiralis* del intestino delgado los días 3, 5, 7 y 10 p.i., comparados con los grupos tratados con DEX (Figura 26B-E).

12.9. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la fase muscular de la infección por *Trichinella spiralis*

Evalúamos el efecto del tratamiento con RTX sobre la fase muscular de la infección por *T. spiralis*. En la gráfica 27A se observa que el tratamiento con una dosis de RTX el día 1 p.i., disminuyó significativamente (*p<0.05) el número de L1 el día 28 p.i. en diafragma (67 ± 12 L1), lengua (44 ± 13 L1), masetero (31 ± 7 L1) y pierna (26 ± 9), comparados con el grupo CITsp-5 (157 ± 17 L1, 96 ± 21 L1, 116 ± 12 L1 y 68 ± 8 L1, respectivamente). En contraste, el tratamiento con una dosis de DEX el día 1 p.i., incrementó significativamente (*p<0.05) el número de L1 el día 28 p.i. en pierna (96 ± 10 L1), mientras que el número de L1 en diafragma (184 ± 29 L1), lengua (101 ± 12 L1) y masetero (89 ± 3 L1, *p<0.05) fueron similares al grupo CITsp-5.

El tratamiento con dos dosis de RTX (días 1 y 3 p.i.) mostró el mismo efecto disminuyendo significativamente (*p<0.05) el número de L1 implantadas el día 28 p.i. en diafragma (65 ± 13 L1), lengua (47 ± 13 L1), masetero (36 ± 10 L1) y pierna (20 ± 8 L1). Mientras que el tratamiento con dos dosis de DEX (días 1 y 3 p.i.) incrementó significativamente (*p<0.05) el número de L1 el día 28 p.i. en diafragma (224 ± 21 L1) y pierna (112 ± 11 L1), comparados con el grupo CITsp-5 (Figura 27B). Cuando se administraron tres dosis de RTX (días 1, 3 y 5 p.i.) se observó una disminución significativa (*p<0.05) en el número de L1 el día 28 p.i. en diafragma (49 ± 16 L1), lengua (41 ± 17 L1), masetero (23 ± 6 L1) y pierna (15 ± 3 L1). Mientras que el tratamiento con tres dosis de DEX (días 1, 3 y 5 p.i.) incrementó significativamente (*p<0.05) el día 28 p.i. el número de L1 en diafragma (225 ± 34 L1), lengua (132 ± 9 L1) y pierna (116 ± 14 L1), comparados con el grupo CITsp-5 (Figura 27C).

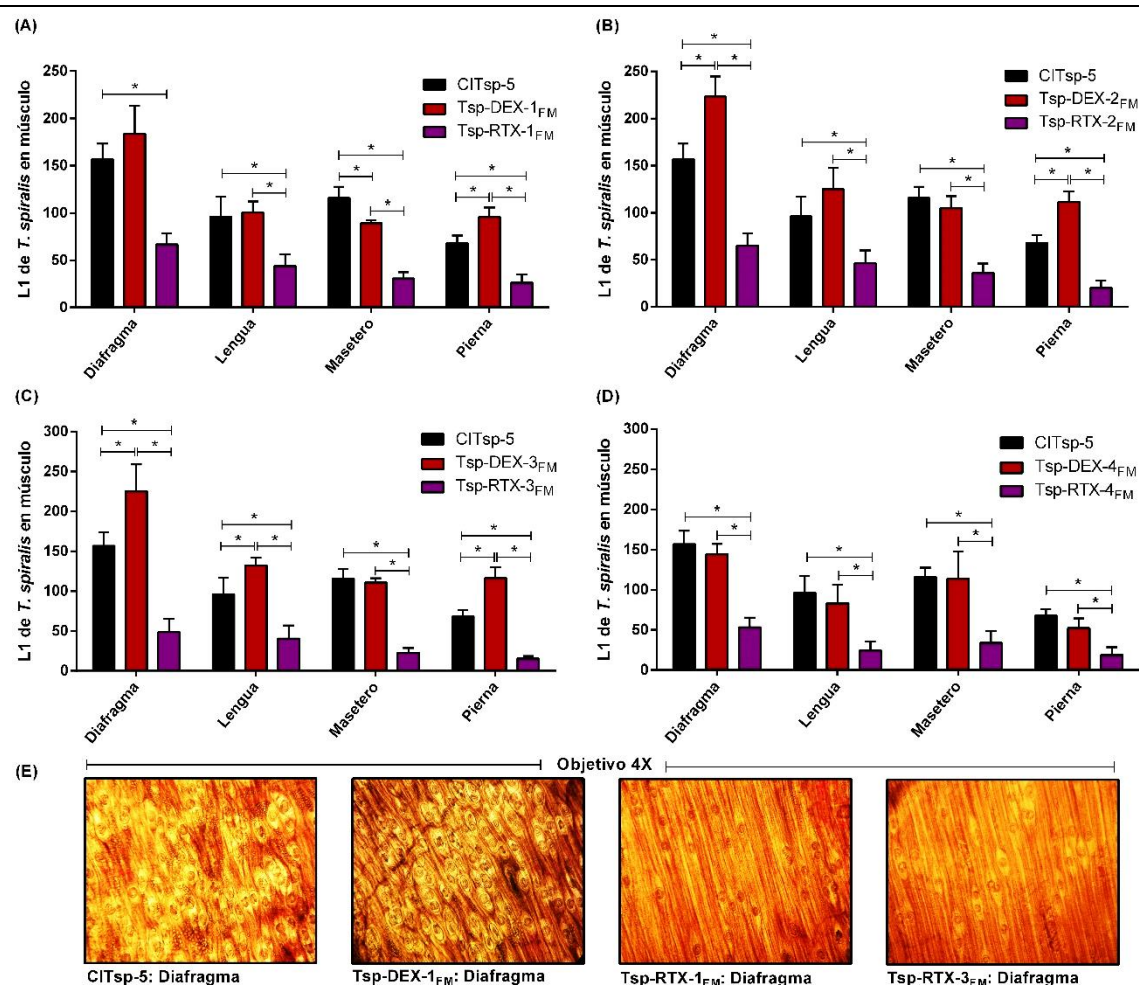


Figura 27. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la implantación de las L1 de *T. spiralis* en tejido muscular. Se muestra el número de L1 de *T. spiralis* en diafragma, lengua, masetero y pierna el día 28 p.i. de los grupos CITsp-5 (barras negras), Tsp-DEX-1-4_{FM} (barras rojas) y Tsp-RTX-1-4_{FM} (barras moradas) tratadas con (A) una dosis de DEX y RTX el día 1 p.i.; (B) dos dosis de DEX y RTX los días 1 y 3 p.i.; (C) tres dosis de DEX y RTX los días 1, 3 y 5 p.i.; y (D) con tres dosis los días 3, 5 y 7 p.i. (E) Fotomicrografías de las L1 de *T. spiralis* implantadas en diafragma el día 28 p.i. de los grupos CITsp-5, Tsp-DEX-1_{FM}, Tsp-RTX-1_{FM} y Tsp-RTX-3_{FM}. Las muestras de tejido muscular fueron observadas bajo el microscopio óptico de luz con el objetivo de 4x. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Finalmente, la figura 27D se muestra como el tratamiento con tres dosis de RTX (días 3, 5 y 7 p.i.) disminuyó significativamente (* $p < 0.05$) el número de L1 el día 28 p.i. en diafragma (53 ± 12 L1), lengua (25 ± 11 L1), masetero (34 ± 15 L1) y pierna (19 ± 8 L1).

Mientras que en el tratamiento con tres dosis de DEX (días 3, 5 y 7 p.i.) no se observó diferencia significativa, comparados con el grupo CITsp-5.

Por otro lado, se determinó el efecto del tratamiento con RTX sobre la carga parasitaria en la fase muscular de la infección por *T. spiralis*. En la figura 28 se muestra como los grupos Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}, tratados con RTX disminuyeron significativamente (* $p < 0.05$) la carga parasitaria el día 28 p.i. (8, 375 \pm 1, 737 L1, 8, 438 \pm 2, 009 L1, 8, 250 \pm 2, 554 L1 y 7, 125 \pm 1, 352 L1, respectivamente), comparados con el grupo CITsp-5 (14, 500 \pm 2, 872 L1).

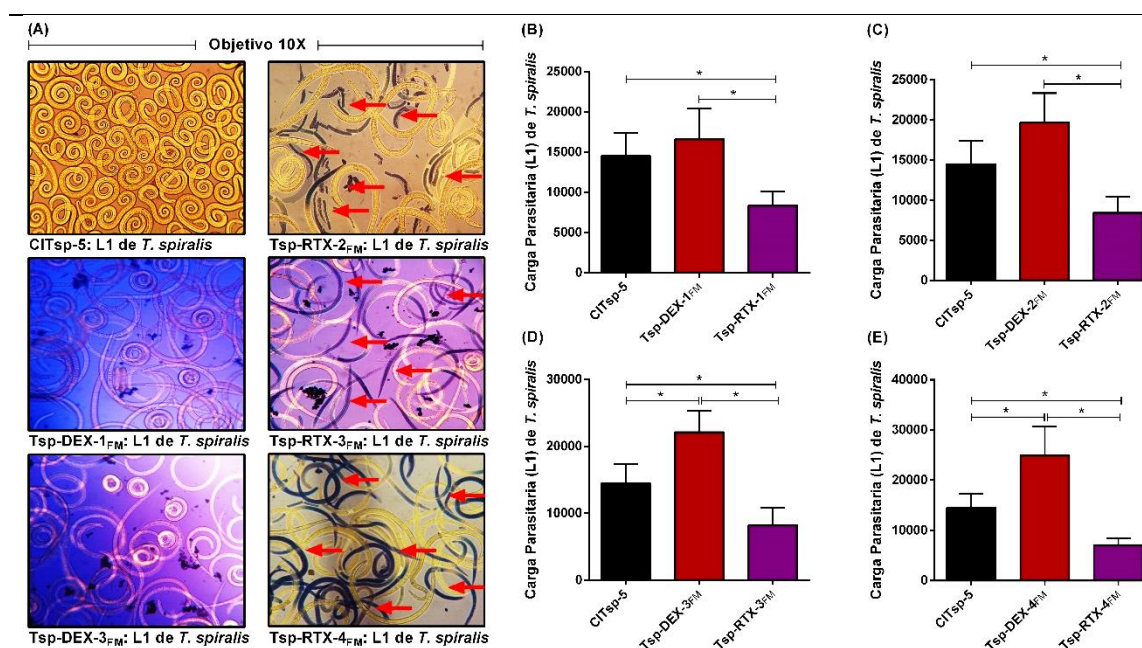


Figura 28. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la carga parasitaria de *T. spiralis*. Se muestra la carga parasitaria de *T. spiralis* por cada 30 gramos de carne infectada de los grupos CITsp-5 (barras negras), tratados con RTX (barras moradas) y DEX (barras rojas). (A) Se muestra la viabilidad de L1 de los grupos tratados con DEX y RTX, donde las flechas rojas indican L1 de *T. spiralis* no viables. Las L1 de *T. spiralis* fueron observadas bajo el microscopio óptico de luz a un objetivo de 10X. (B) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos tratados con una dosis de RTX y DEX el día 1 p.i. (C) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos tratados con dos dosis de RTX y DEX los días 1 y 3 p.i. (D) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos tratados con tres dosis de RTX y DEX los días 1, 3 y 5 p.i. (E) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos tratados con tres dosis de RTX y DEX días 3, 5 y 7 p.i. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

Los grupos Tsp-DEX-1_{FI} y Tsp-DEX-2_{FI}, tratados con DEX, aumentaron la carga parasitaria el día 28 p.i. ($16,625 \pm 3,807$ L1 y $19,650 \pm 3,686$ L1, respectivamente), sin embargo, este incremento no fue significativo, mientras que los grupos Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI} tratados con DEX aumentaron significativamente (* $p < 0.05$) la carga parasitaria el día 28 p.i. ($22,125 \pm 3,243$ L1 y $25,000 \pm 5,728$ L1, respectivamente), comparados con el grupo CITsp-5 (Figura 28B-E).

12.10. Efecto de la resiniferatoxina en la viabilidad de las L1 de *Trichinella spiralis*

Posteriormente, se determinó de manera cualitativa la viabilidad de las L1 de *T. spiralis* de los grupos CITsp-5 y tratados con RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}) y DEX (Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}), a través de la técnica de azul tripano. En la figura 28A se observa que en los grupos tratados con DEX, todas las L1 de *T. spiralis* estaban viables, debido a que el colorante azul tripano no penetró al interior de las L1, similar al grupo CITsp-5. Mientras que en los grupos tratados con RTX, se observaron L1 no viables, debido a que el colorante azul tripano penetró al interior de las L1.

12.11. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre la infectividad de las L1 de *Trichinella spiralis* en ratones BALB/c

Finalmente, se determinó el efecto del tratamiento con RTX sobre la infectividad de las L1 de *T. spiralis* de los grupos CITsp-5 y tratados con DEX y RTX en ratones BALB/c. Cuando los grupos rTsp-RTX-1, rTsp-RTX-2, rTsp-RTX-3 y rTsp-RTX-4 de ratones BALB/c se infectaron con 150 L1 de *T. spiralis* procedentes de los grupos de ratas tratados con RTX (Tsp-RTX-1_{FI}, Tsp-RTX-2_{FI}, Tsp-RTX-3_{FI} y Tsp-RTX-4_{FI}, respectivamente), se observó que la carga parasitaria de los grupos rTsp-RTX-1 ($8,076 \pm 1,990$ L1), rTsp-RTX-2 ($7,758 \pm 1,632$ L1), rTsp-RTX-3 ($9,423 \pm 759$ L1) y rTsp-RTX-4 ($8,428 \pm 517$ L1) disminuyó significativamente (* $p < 0.05$) comparados con el grupo rCITsp ($14,037 \pm 1,807$ L1). Mientras que en los grupos rTsp-DEX-1 ($10,323 \pm 2,872$ L1), rTsp-DEX-2 ($11,056 \pm 3,572$ L1), rTsp-DEX-3 ($10,820 \pm 2,432$ L1) y rTsp-DEX-4 ($10,622 \pm 1,642$ L1) de ratones BALB/c, infectados con 150 L1 de *T. spiralis* procedentes de los grupos de ratas tratadas con DEX (Tsp-DEX-1_{FI}, Tsp-DEX-2_{FI}, Tsp-DEX-3_{FI} y Tsp-DEX-4_{FI}), se

observó que no hubo diferencia significativa comparados con el grupo rCITsp (Figura 29A-D).

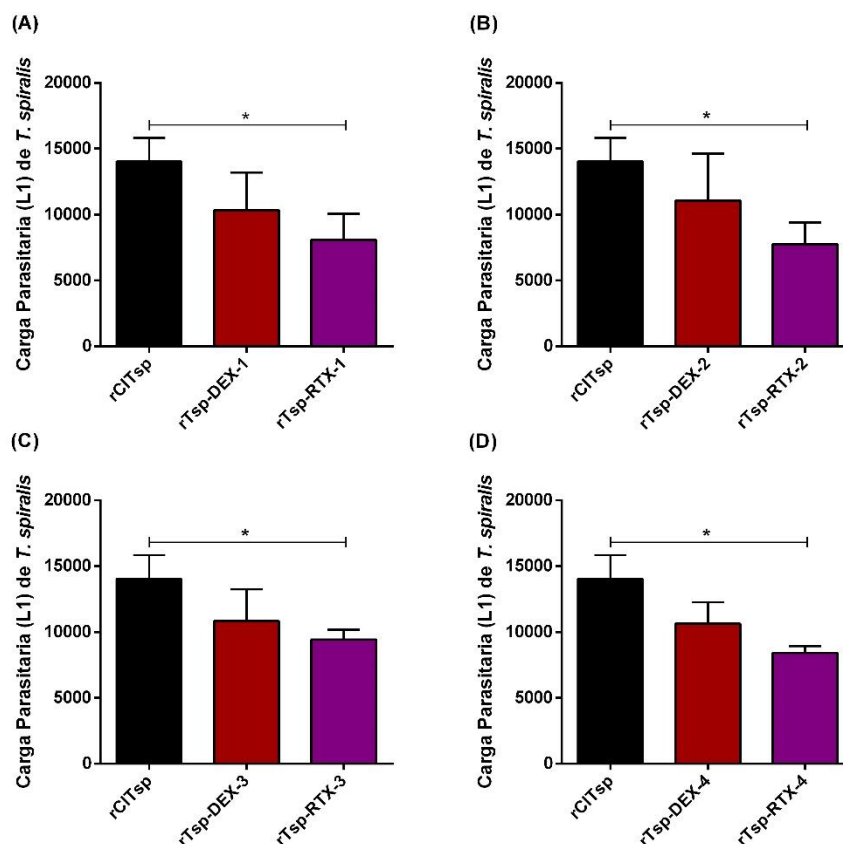


Figura 29. Efecto del tratamiento con resiniferatoxina sobre infectividad de las L1 de *T. spiralis* en ratones BALB/c. Se muestra la carga parasitaria de *T. spiralis* en ratones BALB/c de los grupos rCITsp (barras negras), rTsp-RTX-1-4 (barras moradas) y rTsp-DEX-1-4 (barras rojas). (A) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos infectados con L1 tratadas con una dosis de RTX y DEX el día 1 p.i. (B) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos infectados con L1 tratadas con dos dosis de RTX y DEX los días 1 y 3 p.i. (D) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos infectados con L1 tratadas con tres dosis de RTX y DEX los días 1, 3 y 5 p.i. (E) Carga parasitaria el día 28 p.i. de los grupos infectados con L1 tratadas con tres dosis de RTX y DEX los días 3, 5 y 7 p.i. Los valores son representados como la media \pm D.E. por grupo, indicando el nivel de significancia (* $p < 0.05$).

XIII. DISCUSIÓN

Durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*, se activa el sistema inmune del hospedero induciendo una respuesta inmune temprana de tipo Th1, que posteriormente polariza a una respuesta inmune de tipo Th2, resultando en una mezcla de ambas respuestas inmunes (Ilic et al. 2012; Ashour 2013), dependientes de las células T-CD4⁺ (Bruschi y Chiumiento 2012). Ambas respuestas inmunes, Th1/Th2, tienen un papel clave en el establecimiento del entorno de citocinas en el ambiente intestinal, dirigiendo de este modo, su diferenciación ya sea suprimiendo o favoreciendo la respuesta inflamatoria intestinal, la cual se cree es crucial para la expulsión y eliminación del parásito (Cieza et al. 2012).

Estudios en modelos *in vitro* como *in vivo* han mostrado que durante la etapa temprana de la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*, los antígenos TSL-1 inducen la activación y maduración de las células dendríticas (Ilic et al. 2011; Sofronic-Milosavljevic et al. 2015), promoviendo el desarrollo de la respuesta inmune Th1 (Gruden-Movsesijan et al. 2011), lo que resulta en un incremento significativo de citocinas Th1 como la IL-12 (Gentilini et al. 2011; Yu et al. 2013), INF- γ (Ilic et al. 2008; Gentilini et al. 2011; Gruden-Movsesijan et al. 2011; Yu et al. 2013), IL-1 β (Ming et al. 2016) y TNF- α (Gentilini et al. 2011; Yu et al. 2013). Debido al importante rol de estas citocinas Th1 en la respuesta inmune del hospedero frente a la infección por *T. spiralis*, en este estudio, primero se evaluó el perfil de citocinas Th1 durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*, y observamos que los niveles en suero de IL-12, INF- γ , IL-1 β y TNF- α incrementaron significativamente (Figuras 1 y 2).

Diversos estudios han demostrado la importancia de la respuesta inmune Th1 durante la infección por *T. spiralis*. Sin embargo, estas investigaciones sugieren que la respuesta inmune de tipo Th1 favorece la infección por *T. spiralis*. La IL-12 junto con el INF- γ , son de vital importancia durante la respuesta inmune frente a la infección por *T. spiralis*, ya que participan en la polarización de la respuesta inmune de tipo Th1 (Ilic et al. 2008; Gentilini et al. 2011; Gruden-Movsesijan et al. 2011; Yu et al. 2013) (Figura 4A). Sin embargo, la administración exógena de IL-12 en la infección por *T. spiralis* suprime la

mastocitosis intestinal, retrasando la expulsión del parásito e incrementando la carga parasitaria a nivel muscular (Helmby y Grenais 2003).

Con respecto al TNF- α , estudios han mostrado que es una citocina que se produce durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* (Gentilini et al. 2011; Yu et al. 2013; Roy et al. 2016). Sin embargo, diversos estudios han asociado la producción de TNF- α con el desarrollo de la patología intestinal durante la Trichinellosis. Un estudio mostró, que en ratones deficientes del receptor 1 de TNF (TNFR1) son todavía capaces de expulsar a *T. spiralis*, aunque se observó una reducción en la patología intestinal (Lawrence et al. 1998). Otro estudio mostró que el TNF- α derivado de mastocitos es necesario para la mastocitosis, así como para la generación de la respuesta inmune de tipo Th2, las cuales son necesarias para la expulsión de *T. spiralis* (Ierna et al. 2008). Además, la forma soluble de TNF- α juega un papel crítico en la protección contra el parásito a través de la respuesta inmune Th2, ya que la ausencia de TNF- α soluble en ratones transgénicos retrasó significativamente la expulsión de *T. spiralis*, junto con una reducción en la patología intestinal y la mastocitosis (Ierna et al. 2009). Un estudio reciente reveló que el incremento de los niveles en suero de TNF- α estaba asociado con el desarrollo de la patología intestinal durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* (Muñoz-Carrillo et al. 2017) (Figura 4).

Por otro lado, se sabe que la IL-1 β participa en la respuesta inflamatoria intestinal en la infección por *T. spiralis*. Aunque aún no se conoce bien el rol de la IL-1 β en la Trichinellosis, un estudio *in vitro* mostró las L1 de *T. spiralis* son capaces de incrementar los niveles de IL-1 β derivada de células epiteliales intestinales (Ming et al. 2016). Otro estudio *in vivo* mostró que los niveles en suero de IL-1 β incrementaron significativamente en ratones C56BL/6 infectados con 500 L1 de *T. spiralis* (Roy et al. 2016).

Estas investigaciones sugieren que la respuesta inmune de tipo Th1 del hospedero favorece la infección por *T. spiralis*. En este estudio, se observó que los cuatro tratamientos con RTX y DEX (una dosis el día 1 p.i., dos dosis los días 1 y 3 p.i., tres dosis los días 1, 3 y 5 p.i.; y 3 dosis los días 3, 5 y 7 p.i.) disminuyeron significativamente los niveles en suero de IL-12, INF- γ , TNF- α e IL-1 β en la fase intestinal de la infección

por *T. spiralis*. Por un lado, estudios han demostrado que los antiinflamatorios de tipo esteroideo (como la DEX) suprimen la expresión de genes proinflamatorios por inhibición de factores de transcripción como el NF- κ B (Wullaert et al. 2011), la proteína activadora (AP)-1 (Biddie et al. 2012) y STAT-4, previniendo la transcripción de citocinas inflamatorias como la IL-1 β , TNF- α (Barnes 2006), IL-12 (Franchimont et al. 2000) e INF- γ (Verhoef et al. 1999).

Con respecto a la RTX, se sabe que realiza la mayor parte de sus funciones biológicas a través del receptor TRPV1 (Pal et al. 2009; Nilius y Szallasi 2014), activando y luego desensibilizando al receptor TRPV1 produciendo analgesia (Carnevale y Rohacs 2016; Lee et al. 2016). Sin embargo, estudios *in vitro* han demostrado que la RTX tiene un importante efecto antiinflamatorio, ya que inhibió la expresión de NF- κ B en células ML-1a estimuladas con TNF- α de manera dosis-dependiente (Singh et al. 1996). De manera similar, también se demostró que la RTX inhibió la expresión de la iNOS y COX-2 en macrófagos RAW264.7 estimulados con LPS e IFN- γ , resultando en una disminución de la PGE₂ y NO (Chen et al. 2003). El mismo efecto antiinflamatorio de la RTX se ha observado en modelos *in vivo*. Un estudio basado en un modelo de insuficiencia renal isquémica aguda mostró que el tratamiento con RTX previno el daño renal inhibiendo la respuesta inflamatoria, induciendo simultáneamente una disminución en la expresión del TNF- α renal y un aumento de IL-10 en plasma (Ueda et al. 2008). Otro estudio en ratones BALB/c estimulados con LPS mostró que la RTX disminuyó de manera significativa los niveles en suero de PGE₂, NO y TNF- α (Gutiérrez-Coronado et al. 2012). Finalmente, en una investigación reciente, se observó que el tratamiento con RTX en la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* disminuyó significativamente los niveles de PGE₂, NO y TNF- α en suero de rata (Muñoz-Carrillo et al., 2017). Nuestros resultados coinciden con estos estudios, ya que la RTX disminuyó los niveles en suero de citocinas Th1 como la IL-12, INF- γ , IL-1 β y TNF- α , observándose un efecto farmacológico similar por parte de la RTX (Figura 30).

Es importante resaltar que ambos tratamientos con DEX y RTX en los días 1, 3, 5 y 7 p.i. disminuyeron significativamente los niveles en suero de INF- γ , mostrando una fina regulación a la baja, pero no una supresión de la síntesis de INF- γ . Con respecto a la IL-

12, ambos tratamientos con DEX y RTX en los días 1 y 3 p.i., mostraron una supresión en la síntesis de IL-12. Sin embargo, los en los días 5 y 7 p.i., el tratamiento con DEX continuó suprimiendo la síntesis de IL-12, mientras que el tratamiento con RTX mantuvo los niveles en suero de IL-12 similar al grupo CS. De manera similar, se observó que en los días 1, 3, 5 y 7 p.i., el tratamiento con DEX suprimió la síntesis de IL-1 β y TNF- α , mientras que el tratamiento con RTX mantuvo los niveles en suero tanto de la IL-1 β como del TNF- α similar al grupo CS, mostrando un efecto inmunomodulador, por parte de la RTX, sobre la respuesta inmune de tipo Th1.

Con respecto a la respuesta inmune de tipo Th2, estudios *in vitro* han mostrado que los antígenos TSL-1 de *T. spiralis* son capaces de activar a las células dendríticas, induciendo la síntesis de citocinas Th2 como la IL-4, IL-10 e IL-13 (Gruden-Movsesijan et al. 2011; Ilic et al. 2008, 2011; Cvetkovic et al. 2016). Así mismo, estudios en modelos *in vivo* han demostrado que durante la infección por *T. spiralis* hay un incremento significativo en la síntesis de IL-4, IL-10 e IL-13 (Gentilini et al. 2011; Yu et al. 2013; Roy et al. 2016). Con base a la importancia que representa la respuesta inmune Th2 durante la infección por *T. spiralis*, ya que es una respuesta inmune protectora y responsable de la expulsión del parásito (Ilic et al. 2012), en este estudio evaluamos el perfil de citocinas Th2 tales como la IL-4, IL-10 e IL-13, durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*, y observamos que los niveles en suero de IL-4 incrementaron significativamente los días 3, 5 y 7 p.i. Con respecto a la IL-10, también se observó un incremento significativo de los niveles en suero el día 1 p.i., mientras que los niveles en suero de IL-13 incrementaron significativamente los días 5 y 7 p.i. (Figura 12).

La resistencia a la mayoría de los nematodos gastrointestinales está mediada por las respuestas de citocinas Th2 (Wynn 2003). En la infección por *T. spiralis*, la IL-13, el IL-4R α y la IL-4 desempeñan un papel importante, ya que son necesarias para la generación de la respuesta inmune Th2. Estudios han mostrado que en ratones infectados con *T. spiralis* la IL-4 e IL-13 inducen la hiper-contractilidad de las células musculares del yeyuno y la mastocitosis intestinal promoviendo la expulsión del parásito, a través de la activación de la vía del factor de transcripción STAT-6, observándose la expresión del IL-4R α (Urban et al. 2000; Akiho et al. 2002). Además, otro estudio mostró que la IL-13

derivada de células NK intraepiteliales, es responsable del desarrollo de la patología intestinal que caracteriza la infección intestinal por *T. spiralis* (McDermott et al. 2005).

Tanto el IL-4R α , la IL-4 e IL-13 han sido ampliamente estudiados en la respuesta inmunológica en contra de *T. spiralis* a nivel intestinal, en diferentes cepas de ratones, las cuales difieren en su capacidad de montar una respuesta inmune Th2. La deficiencia del IL-4R α en ratones infectados con *T. spiralis* dio como resultado una reducción sustancial de la expulsión intestinal del parásito, de la patología intestinal y la respuesta inmune Th2 (Scales et al. 2007). De manera similar, la deficiencia de IL-4 e IL-13 en ratones (cepas C57BL/6 y BALB/c, respectivamente) infectados con *T. spiralis*, resultó en una reducción de la expulsión intestinal del parásito, mastocitosis y de la patología intestinal (Scales et al. 2007; Ierna et al. 2008). Sin embargo, otro estudio en ratones C57BL/6 deficientes de IL-4 mostró un retraso significativo en la expulsión intestinal del parásito, pero con un aumento de la patología intestinal (Lawrence et al. 1998). Mientras que en ratones BALB/c deficientes de IL-4, no hubo diferencia en el desarrollo de la patología intestinal ni de la expulsión intestinal del parásito comparadas con los ratones de tipo salvaje (Scales et al. 2007). Por lo tanto, estos estudios sugieren que tanto el IL-4R α , como las IL-4 e IL-13 pueden regular la inducción de la respuesta inmune Th2 protectora y la inflamación intestinal, ambas asociadas con la expulsión de *T. spiralis* (Ierna et al. 2008), y que el genotipo del hospedero es importante en la función individual de las citocinas. Por lo que estas diferencias genotípicas pueden ser un componente importante en el desarrollo de la protección del hospedero (Scales et al. 2007).

Con respecto a la IL-10, una investigación reciente mostró que el ARNm de IL-10 se expresó durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* (Bakir et al. 2017). Así mismo, en otro estudio se observó que en ratones C57BL/6 knockout de IL-10 y ratones normales tratados con un anticuerpo neutralizante anti-receptor de IL-10 fueron altamente susceptibles a la infección por *T. spiralis*, mostrando un retraso significativo en la expulsión de parásitos adultos de *T. spiralis*. El agotamiento de la IL-10 dio como resultado respuestas elevadas de citocinas Th1/Th2, con una reducción significativa del número de mastocitos en la mucosa del yeyuno y un incremento significativo de la carga parasitaria muscular (Helmby y Grencis 2003).

Cuando se administró una dosis de DEX, se observó que le día 1 p.i. los niveles de IL-4 incrementaron significativamente comparados con el grupo CITsp-1. Sin embargo, con dos y tres dosis de DEX (días 3 y 5 p.i.), los niveles de IL-4 disminuyeron significativamente comparados con el grupo CITsp, manteniéndose similares al grupo CS. Para el día 7 p.i. (3 dosis de DEX), los niveles en suero de IL-4 fueron similares a los grupos CITsp-4 y CS (Figura 17). Esto muestra como el tratamiento con DEX modula la síntesis de IL-4, mostrando una fina regulación a la baja. Con respecto a la IL-10, se observó que en los cuatro tratamientos con DEX no se modificaron significativamente los niveles en suero de IL-10 comparados con los grupos CITsp1-4 y CS (Figura 18). Mientras que los niveles en suero de IL-13 incrementaron significativamente con una (día 1 p.i.) y tres dosis (días 3, 5 y 7 p.i.) de DEX (Figura 19).

En general, nuestros resultados coinciden con estudios realizados sobre el efecto de la DEX sobre la síntesis de las IL-4, IL-10 e IL-13. En un estudio se observó que en la línea celular de mastocitos leucémicos humanos (HMC)-1 al ser estimuladas con Ionomicina (ionóforo de calcio) potenció significativamente la síntesis del ARNm de IL-4, las cuales al ser tratadas con DEX no se observó efecto sobre los niveles del ARNm de IL-4 (Warbrick et al. 1997). Sin embargo, otro estudio en células de bazo procedentes de ratones BALB/c inmunizados con hemocianina de la lapa californiana (KLH, keyhole limpet), se observó que la DEX suprimió la producción de IL-4 (Moynihan et al. 1998). Otro estudio *in vitro* mostró que, en células sanguíneas procedentes de individuos sanos, que fueron previamente estimuladas con LPS, la DEX inhibió significativamente la secreción de IL-4 e IL-10 (Franchimont et al. 1998).

En otra investigación en la cual se indujo la expresión del IL-4R en linfocitos humanos a través de la activación de proteína quinasa (PK)-C con miristato acetato de forbol (PMA) o activando la vía Janus cinasa-Stat con IL-4, se observó que el tratamiento farmacológico con DEX inhibió significativamente los niveles de ARNm y proteína de IL-4R α inducido por el PMA en las células mononucleares totales de sangre periférica y en las células T aisladas. La DEX también disminuyó la expresión de IL-4R α inducida por la IL-4 en la superficie de linfocitos T y B aislados (Mozo et al. 1998). Sin embargo, un estudio reveló que la DEX indujo poblaciones de células T-CD4 y CD8, sintetizando niveles elevados

de IL-10, pero con una reducción en gran medida de la síntesis de IL-4 (Richards et al. 2000). De manera similar, otro estudio mostro que la DEX reguló al alza la producción tanto del ARNm y proteína de la IL-10, debido al incremento de la transcripción génica en monocitos. Por lo tanto, los niveles de transcripción de IL-10, se cree están regulados positivamente por los GC, probablemente a través de la unión del GC-GR a la secuencia GRE en el promotor de la IL-10 (Mozo et al. 2004).

Con respecto a la IL-13, un estudio mostró que en tejido pulmonar de ratones A/J inmunizados con ovoalbúmina la DEX redujo de manera significativa los niveles de IL-13 (Eum et al. 2003). Por otro lado, otra investigación reveló un efecto similar en la línea celular de mastocitos de pulmón humano (HMC)-1, mostrando que estas células son capaces de producir IL-13 y que el tratamiento con DEX suprime la producción de IL-13 por estas células a través de una acción inhibidora en la expresión génica (Fushimi et al. 1998). Estas investigaciones muestran como la DEX puede modular la síntesis de citocinas Th2, ya sea suprimiendo o favoreciendo su síntesis, dependiente el modelo experimental y/o ambiente molecular. En nuestro modelo, se observa como la DEX regula finamente la respuesta inmune Th2, suprimiendo la síntesis de IL-4 y favoreciendo la síntesis de IL-13.

Con respecto al tratamiento con RTX, esta es la primera vez que se reporta un efecto modulador de la RTX sobre la síntesis de citocinas Th2. Nuestros resultados muestran como el tratamiento con diferentes dosis de RTX incrementa significativamente los niveles en suero de IL-4, IL-10 e IL-13. Debido a que no existen reportes en la literatura sobre el efecto de la RTX sobre la producción de citocinas Th2, quizá el incremento de la producción de IL-4, IL-10 e IL-13, pudiera estar asociado con la regulación a la baja de citocinas Th1, resultado del tratamiento con RTX, ya que al inhibir la síntesis de INF- γ e IL-12, esto puede conducir y favorecer la polarización hacía una respuesta inmune de tipo Th2. Sin embargo, los mecanismos subyacentes del efecto modulador de la RTX sobre la producción de citocinas Th2 siguen siendo una pregunta abierta para futuras investigaciones.

Durante la respuesta inflamatoria asociada a la infección por helmintos, las células inflamatorias como los eosinófilos son prominentes (Rothenberg y Hogan 2006). En este estudio, se evaluó el número de eosinófilos en sangre (Figura 20) y en tejido intestinal (Figuras 21) durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. Las células T son estimuladas por antígenos TSL-1 de *T. spiralis* lo que conduce a la liberación de citocinas como las IL-4 e IL-5, las cuales inducen la diferenciación terminal y proliferación de eosinófilos (Bruschi et al. 2008), favoreciendo la hiperplasia intestinal de eosinófilos durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* (Vallance et al. 2000, 1999; Suzuki et al. 2008), promoviendo así la respuesta inflamatoria. En el presente estudio, se observó un aumento significativo en el número de eosinófilos en sangre y en tejido intestinal durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*.

Cuando se administraron los cuatro tratamientos con DEX en la fase intestinal, se observó que el número de eosinófilos en sangre y en tejido intestinal disminuyó significativamente. Se sabe que la DEX induce apoptosis de eosinófilos, a través del incremento de la actividad de las caspasas 2, 3, 6 y 8 (Arai et al. 2000), inhibiendo su supervivencia (Barnes 2011) de manera dosis-dependiente (Lamas et al. 1991), lo cual coincide con nuestros resultados sobre el efecto farmacológico observado en el tratamiento con DEX.

Por otro lado, se observó que el tratamiento con RTX exhibió un efecto similar al tratamiento con DEX, disminuyendo significativamente el número de eosinófilos en sangre los días 1 y 5 p.i., y en tejido intestinal los días 5 y 7 p.i. Sin embargo, el tratamiento con RTX disminuyó más el número de eosinófilos en sangre los días 3 y 7 p.i., y en tejido intestinal el día 3 p.i., mientras que el día 10 p.i. el tratamiento con DEX disminuyó más el número de eosinófilos en tejido intestinal que el tratamiento con RTX. No obstante, en general, ambos tratamientos mostraron efectos similares disminuyendo significativamente el número de eosinófilos en sangre y tejido intestinal durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*. Estudios previos han asociado la supervivencia de eosinófilos con la producción de TNF- α , ya que el TNF- α derivado de mastocitos induce la supervivencia de eosinófilos a través de la producción autocrina del GM-CSF (Levi-Schaffer et al. 1998), el cual también está involucrado en la adhesión de células endoteliales e induce la activación, degranulación y producción de citocinas de eosinófilos

(Uings et al., 2005). Además, en un estudio reciente, se observó que el tratamiento con RTX en la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* disminuyó significativamente ambos, los niveles en suero de TNF- α y el número de eosinófilos en sangre (Muñoz-Carrillo et al. 2017). En este estudio, también se observó que el tratamiento con RTX disminuyó simultáneamente los niveles de TNF- α y el número de eosinófilos en sangre y tejido intestinal, lo que, junto con los resultados reportados en la literatura, nos permite suponer que la disminución de los eosinófilos, tanto en sangre como en tejido intestinal, podría estar asociada con el efecto de RTX en la síntesis de TNF- α (Figura 30), aunque se necesitan más estudios para confirmar esta hipótesis.

Actualmente los GC son utilizados como tratamiento farmacológico para la respuesta inflamatoria durante la trichinellosis. Sin embargo, su uso terapéutico está limitado debido a que previos estudios han mostrado que los GC favorecen la infección por *T. spiralis*. Un estudio mostró que las ratas tratadas con betametasona fueron más susceptibles a la infección por *T. spiralis*, ya que se observó un aumento significativo de la carga parasitaria en comparación con el grupo control infectado (Alvarado et al. 1996). Otro estudio, mostró resultados similares, donde se observó que el tratamiento con DEX aumentó la proporción de linfocitos apoptóticos y necróticos, así como el número de larvas en tejido muscular en ratones tratados con DEX (Piekarska et al. 2010). En un estudio reciente, se observó que el tratamiento con DEX en la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* incremento significativamente la implantación de L1 en tejido muscular, así como la carga parasitaria (Muñoz-Carrillo et al. 2017). Nuestros resultados coinciden con estas investigaciones, ya que en este estudio se observó que el tratamiento con DEX durante la fase intestinal, aumentó significativamente de manera dosis-dependiente tanto la implantación de L1, así como la carga parasitaria de *T. spiralis*. Esto debido a la supresión sistémica de la respuesta inmune del hospedero por el tratamiento con DEX.

Con respecto a la RTX, un estudio reciente mostró que el tratamiento con RTX en la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* disminuyó significativamente tanto la implantación de L1 en tejido muscular, así como la carga parasitaria de *T. spiralis* (Muñoz-Carrillo et al. 2017). Este estudio coincide con nuestros resultados ya que, de igual manera, en el presente estudio se observó que el tratamiento con RTX en fase

intestinal disminuyó significativamente tanto la implantación de L1 en tejido muscular, así como la carga parasitaria de manera dosis-dependiente (Figura 30).

Diversos estudios han mostrado, que la ausencia de eosinófilos disminuye la carga parasitaria en la infección por *T. spiralis* (Fabre et al. 2009) y que los eosinófilos pueden influir en la respuesta inmune de manera que sostienen la infección crónica y aseguran la supervivencia del parásito en el hospedero (Huang et al. 2014, 2015a, 2015b). Basándose en estos estudios y nuestros resultados, emerge la hipótesis de que la reducción de la carga parasitaria está asociada al tratamiento con RTX, ya que éste disminuye el número de eosinófilos en la sangre y tejido intestinal, así como la producción sistémica de citocinas Th1, lo que a su vez favorece la producción de citocinas Th2, exhibiendo de esta manera un efecto protector frente a la infección por *T. spiralis*.

Con el propósito de elucidar un poco más el efecto protector del tratamiento con RTX en la fase intestinal de la infección por *T. spiralis*, en este estudio se evaluó el efecto de la RTX sobre el número de mastocitos en tejido intestinal, así como la expulsión intestinal de *T. spiralis*, ya que se sabe que los mastocitos, como parte de la respuesta inmune Th2, están involucrados en la expulsión de *T. spiralis* (Knight et al. 2000; Lawrence et al. 2004; Knight et al. 2008).

Diversos estudios han mostrado que durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* hay un incremento en el número de mastocitos (Gentilini et al. 2011) en tejido intestinal (Roy et al. 2016), observándose al mismo tiempo una reducción en el número de parásitos adultos de *T. spiralis* (Alizadeh y Wakelin 1982; Lawrence et al. 1998; Vallance et al. 1999; Vallance et al. 2000), lo que indica que la mastocitosis intestinal favorece la expulsión intestinal de *T. spiralis* (Gurish et al. 2004; Suzuki et al. 2008). En la figura 25 se observa que el día 0 p.i. las ratas fueron infectadas vía oral con 500 L1. Según el ciclo biológico de *T. spiralis*, aproximadamente del día 1 al 2 p.i., las L1 maduran a parásitos adultos de *T. spiralis* (Theodoropoulos y Petrakos 2010); nuestros resultados revelaron que para el día 3 p.i. hay en promedio el mismo número de parásitos adultos de *T. spiralis* (474 ± 35) que de L1 (500 L1) con las cuales se infectó nuestro modelo experimental; lo que sugiere que para el día 3 p.i. aún no ocurre la expulsión de los parásitos adultos de *T.*

spiralis. Posteriormente, se observó que para el día 5 p.i., disminuyó significativamente el número de parásitos adultos de *T. spiralis* en tejido intestinal, comparado con el día 3 p.i.; expulsando aproximadamente 206 ± 6 parásitos adultos de *T. spiralis*, lo que representa el 43%. Para los días 7 y 10 p.i., ya no se observó expulsión intestinal de parásitos adultos de *T. spiralis*. Paralelamente, se observó que en los días 3 y 5 p.i. hubo un incremento significativo del número de mastocitos en tejido intestinal (Figura 23), por lo que nuestros resultados coinciden con lo reportado en la literatura, ya que en nuestro modelo experimental se puede observar que durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* el número de mastocitos incrementó significativamente, favoreciendo la expulsión de adultos de *T. spiralis*.

Los parásitos adultos de *T. spiralis* que sobrevivieron a la expulsión intestinal (268 ± 32) fueron sexados y se encontró una relación 2:1 hembra/macho, los cuales fueron suficientes para producir una carga parasitaria muscular alta (Figuras 27 y 28). Esto se debe a que cada parásito adulto hembra es capaz de reproducir un promedio de 80 LRN de *T. spiralis*, las cuales se diferenciarán en L1 en el tejido muscular (Moreno et al. 2009), que multiplicado por el número de hembras adultas (179 ± 21) de *T. spiralis* que no fueron expulsadas da un total de 14, $320 \pm 2, 560$ LI; este cálculo hipotético, basado en el estudio realizado por Moreno et al. (2009) coincide con nuestros resultados, ya que para el día 28 p.i., se observó que el grupo CITsp-5 presentó una carga parasitaria de 14, $500 \pm 2, 872$ LI (Figura 28).

Cuando se administraron las cuatro dosis de DEX, se observó que ningún tratamiento presentó diferencia significativa en el número de mastocitos en tejido intestinal, comparados con los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4 (Figura 24), es decir, que el tratamiento con DEX no modificó la mastocitosis intestinal. Sin embargo, se observó que estos grupos tratados con DEX, no fueron capaces de expulsar a los parásitos adultos de *T. spiralis*, manteniendo en los cuatro tratamientos un promedio de adultos similar a los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4 (Figura 26). Este efecto farmacológico por parte de la DEX puede explicarse con base a diversos puntos: **1)** debido a que los mastocitos expresan el receptor de IgE (FcεRI) (Kawakami y Galli 2002), estas células responden a la IgE, liberando sus gránulos, los cuales contienen mediadores

proinflamatorios preformados y/o sintetizados de *novo* (Collado-Escobar et al. 1990; Wershil et al. 1995; Rider et al. 1996; Andrade et al. 2004), como el TNF- α , IL-4 e IL-5, lo que favorece la respuesta inflamatoria. En este contexto, los glucocorticoides como la DEX, actúan en los mastocitos inhibiendo la expresión del receptor Fc ϵ RI (Irani et al. 1995; Yamaguchi et al. 2001), impidiendo su degranulación o exocitosis de manera dosis-dependiente (Mori et al. 2016); **2**) así mismo, también la DEX actúa suprimiendo la síntesis de diversas citocinas derivadas de mastocitos, como el TNF- α , IL-4 e IL-5, a nivel post-tradicional (Sewell et al. 1998; Koranteng et al. 2004) y; **3**) se ha observado que la DEX inhibe el desarrollo y proliferación de mastocitos (Irani et al. 1995; Smith et al. 2002), inhibiendo el factor de células madre (SCF) (Finotto et al. 1997; Jeong et al. 2003), el cual es un factor de crecimiento crucial en la biología de los mastocitos, ya que regula diversas funciones celulares como la proliferación, diferenciación, supervivencia, adhesión, y liberación de mediadores proinflamatorios (Irani et al. 1992). Por lo anterior, al inhibir la proliferación, degranulación y liberación de citocinas como la IL-4 de mastocitos, conduce a que el hospedero sea incapaz de expulsar a los parásitos adultos de *T. spiralis*, ya que estudios han mostrado que en modelos de ratones knockout de mastocitos e IL-4 fueron incapaces de expulsar a los parásitos adultos de *T. spiralis* (Lawrence et al. 1998; Vallance et al. 2000; Ierna et al. 2008).

Con respecto al tratamiento con RTX, se observó el efecto contrario al tratamiento con DEX, ya que en los cuatro tratamientos con RTX incrementó significativamente el número de mastocitos en tejido intestinal (Figura 24); y al mismo tiempo se observó una reducción significativa en el número de parásitos adultos de *T. spiralis* (Figuras 26), comparados con los grupos tratados con DEX y los grupos CITsp-1, CITsp-2, CITsp-3 y CITsp-4. Esta es la primera vez que un estudio muestra como la RTX favorece la mastocitosis intestinal y a su vez la expulsión intestinal de *T. spiralis* (Figura 30), razón por la cual se observa que en la fase muscular de la infección el tratamiento con RTX disminuye significativamente la implantación de L1 y carga parasitaria de *T. spiralis* en tejido muscular (Figuras 27 y 28). Quizá este efecto protector por parte de la RTX frente a la infección por *T. spiralis* se deba a que: **1**) la RTX reguló a la baja a la respuesta inmune Th1, favoreciendo a su vez a la polarización de la respuesta inmune Th2, ya que incrementaron significativamente los niveles de IL-4, IL-10 e IL-13; **2**) a su vez el

tratamiento con RTX redujo significativamente el número de eosinófilos e incremento significativamente el número de mastocitos; **3)** favoreciendo la expulsión intestinal del parásito con una reducción significativa de la carga parasitaria (Figura 30).

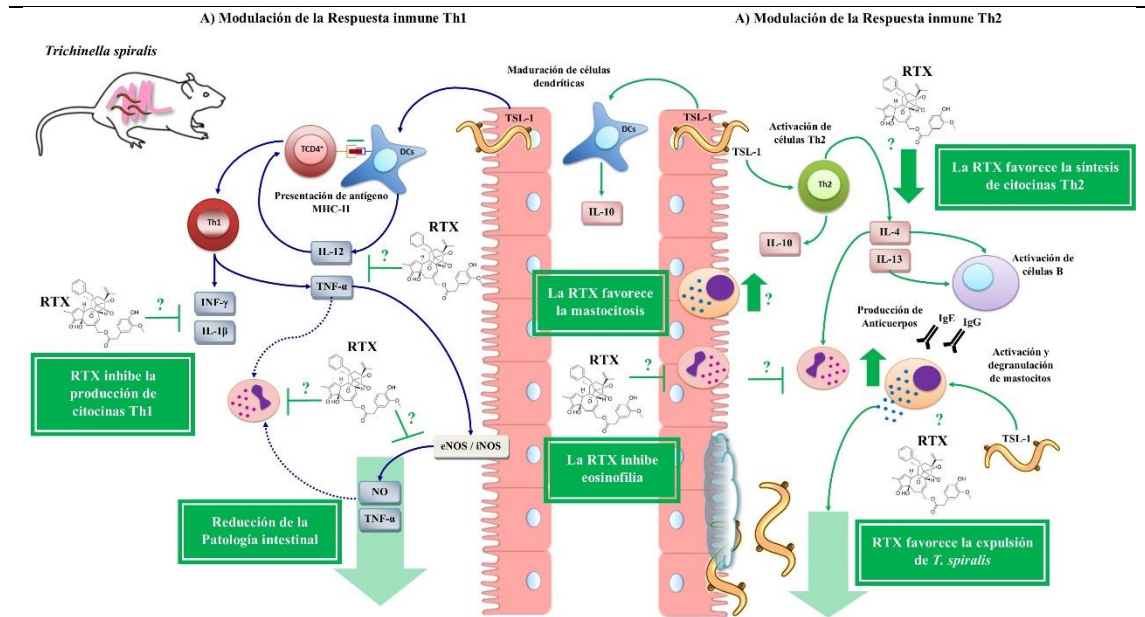


Figura 30. Modulación de las respuestas inmunes Th1/Th2 por parte de la resiniferatoxina frente a la infección por *T. spiralis*. A) RTX modula la respuesta inmune de tipo Th1, a través de la disminución de citocinas Th1 (proinflamatorias) como la IL-12, INF- γ , IL-1 β y TNF- α , además de la eosinofilia, lo que resulta en una disminución de la patología intestinal, en la fase intestinal. B) El tratamiento con RTX favorece la síntesis de citocinas Th2, como IL-4, IL-10 e IL-13. Así mismo, favorece tanto la hiperplasia de mastocitos en tejido intestinal, como la expulsión de los parásitos adultos de *T. spiralis*, observándose una reducción de la implantación de L1 y carga parasitaria en la fase muscular de la infección por *T. spiralis*, exhibiendo así un efecto protector por parte de la RTX frente a la infección por *T. spiralis*. Basado en los resultados y discusión de este trabajo, este es un modelo propuesto por Muñoz-Carrillo José Luis.

Finalmente, mostramos por primera vez que el tratamiento con RTX afectó la viabilidad de las L1 de *T. spiralis*, disminuyendo significativamente su capacidad infectiva, ya que en este estudio se observó que en ratones BALB/c infectados con L1 de *T. spiralis* previamente tratadas con RTX (rTsp-RTX-1, rTsp-RTX-2, rTsp-RTX-3 y rTsp-RTX-4), mostraron una reducción significativa de la carga parasitaria comparado con el grupo rCITsp, infectado con L1 del grupo CITsp-5 y con los grupos control infectados con L1 previamente tratadas con DEX (rTsp-DEX-1, rTsp-DEX-2, rTsp-DEX-3 y rTsp-DEX-4).

XIV. CONCLUSIONES

El tratamiento con resiniferatoxina muestra un efecto inmunomodulador durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal, protegiendo al hospedero frente a la infección por *T. spiralis*, debido a que el tratamiento con resiniferatoxina:

1. Modula la respuesta inmune Th1, inhibiendo significativamente la producción de citocinas Th1, como la IL-12, INF- γ , IL-1 β y TNF- α .
2. Favorece la respuesta inmune Th2, a través del incremento significativo de la síntesis de citocinas IL-4, IL-10 e IL13.
3. Afecta a poblaciones de células inmunes innatas, ya que disminuyó significativamente el número de eosinófilos en sangre y tejido intestinal, y a su vez incremento significativamente el número de mastocitos en tejido intestinal,
4. Favorece la expulsión intestinal de parásitos adultos de *T. spiralis*, en fase intestinal, disminuyendo el número de L1 y carga parasitaria en tejido muscular, en la fase muscular de la infección por *T. spiralis*.
5. Afecta la viabilidad y capacidad infectiva de las L1, alternado el ciclo de vida de *T. spiralis* en otros hospederos, como el ratón, reduciendo la carga parasitaria muscular.

XV. PERSPECTIVAS

De acuerdo con los resultados obtenidos, es necesario realizar más investigaciones futuras para ayudar a comprender los mecanismos subyacentes de la resiniferatoxina sobre la modulación de las respuestas inmunes Th1 (inflamatoria) y Th2; lo que nos permitirá evaluar su uso terapéutico, colocándola como una droga potencial para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

XVI. BIBLIOGRAFÍA

- Abraham SN, John ALS. 2010. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nature Reviews Immunology* 10(6); 440-452.
- Agosti JM, Altman LC, Ayars GH, Loegering DA, Gleich GJ, Klebanoff SJ. 1987. The injurious effect of eosinophil peroxidase, hydrogen peroxide, and halides on pneumocytes in vitro. *Journal of allergy and clinical immunology* 79(3); 496-504.
- Akiho H, Blennerhassett P, Deng Y, Collins SM. 2002. Role of IL-4, IL-13, and STAT6 in inflammation-induced hypercontractility of murine smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 282(2): G226-G232.
- Akiho H, Ihara E, Motomura Y, Nakamura K. 2011. Cytokine-induced alterations of gastrointestinal motility in gastrointestinal disorders. *World journal of gastrointestinal pathophysiology* 2(5): 72-81.
- Alizadeh H, Wakelin D. 1982. Comparison of rapid expulsion of *Trichinella spiralis* in mice and rats. *International journal for parasitology* 12(1); 65-73.
- Alvarado RM, Meza LE, García ME, Saldívar S, Moreno GA. 1996. Hormonal effect on the parasite load in the infection by *T. spiralis* of a murine experimental model. Trichinellosis. In 9th International Conference Trichinellosis (ICT9). Edit. Ortega PW. pp. 107-114.
- Andrade MA, Siles-Lucas M, López-Abán J, Nogal-Ruiz JJ, Pérez-Arellano JL, Martínez-Fernández AR, Muro A. 2007. *Trichinella*: differing effects of antigens from encapsulated and non-encapsulated species on *in vitro* nitric oxide production. *Veterinary parasitology* 143(1): 86-90.
- Andrade MV, Hiragun T, Beaven MA. 2004. Dexamethasone suppresses antigen-induced activation of phosphatidylinositol 3-kinase and downstream responses in mast cells. *The Journal of Immunology* 172(12); 7254-7262.

- Anthony RM, Rutitzky LI, Urban JF, Stadecker MJ, Gause WC. 2007. Protective immune mechanisms in helminth infection. *Nature Reviews Immunology* 7(12): 975-987.
- Appleton JA, Romaris F. 2001. A pivotal role for glycans at the interface between *Trichinella spiralis* and its host. *Veterinary Parasitology* 101(3-4): 249-60.
- Arai Y, Nakamura Y, Inoue F, Yamamoto K, Saito K, Furusawa S. 2000. Glucocorticoid-induced apoptotic pathways in eosinophils: comparison with glucocorticoid-sensitive leukemia cells. *International journal of hematology* 71(4): 340-349.
- Arasu P, Ellis LA, Iglesias R, Ubeira FM, Appleton JA. 1994. Molecular analysis of antigens targeted by protective antibodies in rapid expulsion of *Trichinella spiralis*. *Molecular and biochemical parasitology* 65(2): 201-211.
- Ashour DS. 2013. *Trichinella spiralis* immunomodulation: an interactive multifactorial process. *Expert review of clinical immunology* 9(7): 669-675.
- Ashwell JD, Lu FW, Vacchio MS. 2000. Glucocorticoids in T cell development and function. *Annual review of immunology* 18(1): 309-345.
- Bakir HY, Attia RA, Mahmoud AE, Ibraheim Z. 2017. M-RNA Gene Expression of INF- γ and IL-10 during Intestinal Phase of *Trichinella spiralis* after Myrrh and Albendazole Treatment. *Iranian Journal of Parasitology* 12(2): 188-195.
- Bancroft AJ, McKenzie AN, Grencis RK. 1998. A critical role for IL-13 in resistance to intestinal nematode infection. *The Journal of Immunology* 160(7): 3453-3461.
- Barbuleacu K B. 1998. IL-12 and IL-18 differentially regulate the transcriptional activity of the human IFN- γ promoter in primary CD4⁺ T lymphocytes. *The Journal of Immunology* 160(8): 3642-3647.
- Barnes PJ. 2006. How corticosteroids control inflammation: quintiles prize lecture 2005. *British journal of pharmacology* 148(3): 245-254.

- Barnes PJ. 2011. Glucocorticosteroids: current and future directions. *British journal of pharmacology* 163(1): 29-43.
- Beiting DP, Gagliardo LF, Hesse M, Bliss SK, Meskill D, Appleton JA. 2007. Coordinated control of immunity to muscle stage *Trichinella spiralis* by IL-10, regulatory T cells, and TGF- β . *The journal of immunology* 178(2): 1039-1047.
- Belvisi MG. 2004. Regulation of inflammatory cell function by corticosteroids. *Proceedings of the American Thoracic Society* 1(3): 207-214.
- Bennett BL, Cruz R, Lacson RG, Manning AM. 1997. Interleukin-4 suppression of tumor necrosis factor α -stimulated E-selectin gene transcription is mediated by STAT6 antagonism of NF- κ B. *Journal of Biological Chemistry* 272(15): 10212-10219.
- Berger SA. 2010. *Infectious Diseases of Mexico, 2010*. GIDEON Informatics Inc, e-books 439 pp.
- Berger SA. 2017a. *Trichinosis: Global Status: 2017 edition*. GIDEON Informatics Inc, e-books. ISBN: 978-1-4988-1680-9. Pag. 1-114.
- Berger SA. 2017b. *Infectious Diseases of Mexico: 2017 edition*. GIDEON Informatics Inc, e-books. ISBN: 978-1-4988-1412-6. Pag. 368-69.
- Biddie SC, Conway-Campbell BL, Lightman SL. 2012. Dynamic regulation of glucocorticoid signalling in health and disease. *Rheumatology* 51(3): 403-412.
- Bischoff SC. 2007. Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nature reviews. Immunology* 7(2); 93-104.
- Bochner BS, Schleimer RP. 1994. The role of adhesion molecules in human eosinophil and basophil recruitment. *Journal of allergy and clinical immunology* 94(3); 427-438.

- Bogdan C, Schleicher U. 2006. Production of interferon- γ by myeloid cells—fact or fancy? Trends in immunology 27(6): 282-90.
- Bogdan C. 2001. Nitric oxide and the immune response. Nature immunology 2(10): 907-916.
- Bolás-Fernandez F, Corral Bezara LD. 2006. TSL-1 antigens of *Trichinella*: an overview of their potential role in parasite invasion, survival and serodiagnosis of trichinellosis. Research in veterinary science 81(3): 297-303.
- Boyce JA, Friend D, Matsumoto R, Austen KF, Owen WF. 1995. Differentiation in vitro of hybrid eosinophil/basophil granulocytes: autocrine function of an eosinophil developmental intermediate. Journal of Experimental Medicine 182(1); 49-57.
- Bozic F, Jasarevic A, Marinculic A, Durakovic E, Kozaric Z. 2000. Dexamethasone as a modulator of jejunal goblet cells hyperplasia during *Trichinella spiralis* gut infection of mice. Helminthologia 37(1): 3-8.
- Bruschi F, Chiumiento L. 2012. Immunomodulation in trichinellosis: Does *Trichinella* really escape the host immune system? Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders) 12(1): 4-15.
- Bruschi F, Korenaga M, Watanabe N. 2008. Eosinophils and *Trichinella* infection: toxic for the parasite and the host? Trends in parasitology 24(10): 462-467.
- Bruschi F, Murrell KD. 2002. New aspects of human trichinellosis: the impact of new *Trichinella* species. Postgraduate Medical Journal 78(915): 15–22.
- Bruschi F. 2012. Trichinellosis in developing countries: is it neglected? The Journal of Infection in Developing Countries 6(03): 216-222.
- Butterworth AE. 1977. The eosinophil and its role in immunity to helminth infection. In Current topics in microbiology and immunology 77; 127–68.

- Carnevale V, Rohacs T. 2016. TRPV1: a target for rational drug design. *Pharmaceuticals* 9(3): 52.
- Chang HD, Helbig C, Tykocinski L, Kreher S, Koeck J, Niesner U, Radbruch A. 2007. Expression of IL-10 in Th memory lymphocytes is conditional on IL-12 or IL-4, unless the IL-10 gene is imprinted by GATA-3. *European journal of immunology* 37(3): 807-817.
- Charmandari E. 2011. Primary generalized glucocorticoid resistance and hypersensitivity. *Hormone research in paediatrics* 76(3): 145-155.
- Chávez MI, Reveles RG, Muñoz JJ, Maldonado C, Moreno MA. 2011. Utilidad del modelo experimental de cerdo en el estudio y tratamiento de la Trichinellosis. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria* 12(5B): 1-18.
- Chávez Ruvalcaba F, Chávez Ruvalcaba MI, Hernández Luna CE, Muñoz Escobedo JJ, Muñoz Carrillo JL, Moreno García MA. 2017. Evaluación de anticuerpos anti-*Trichinella spiralis* obtenidos por inmunizaciones sublinguales y convencionales con la proteína 45kDa. *Acta Biológica Colombiana* 22(2): 149-156.
- Chen CW, Lee ST, Wu WT, Fu WM, Ho FM, Lin WW. 2003. Signal transduction for inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 induction by capsaicin and related analogs in macrophages. *British journal of pharmacology* 140(6): 1077-1087.
- Chomarat P, Banchereau J. 1998. Interleukin-4 and Interleukin-13: their similarities and discrepancies. *International reviews of immunology* 17(1-4): 1-52.
- Cieza RJ, Cao AT, Cong Y, Torres AG. 2012. Immunomodulation for gastrointestinal infections. *Expert review of anti-infective therapy* 10(3): 391-400.
- Collado-Escobar D, Cunha-Melo JR, Beaven MA. 1990. Treatment with dexamethasone down-regulates IgE-receptor-mediated signals and up-regulates adenosine-

- receptor-mediated signals in a rat mast cell (RBL-2H3) line. *The Journal of Immunology* 144(1); 244-250.
- Collins PD, Marleau S, Griffiths-Johnson DA, Jose PJ, Williams TJ. 1995. Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo. *Journal of Experimental Medicine* 182(4); 1169-1174.
- Cox FE. 2002. History of Human Parasitology. *Clinical Microbiology Reviews* 15(4): 595-608.
- Cvetkovic J, Sofronic-Milosavljevic L, Ilic N, Gnjatovic M, Nagano I, Gruden-Movsesijan A. 2016. Immunomodulatory potential of particular *Trichinella spiralis* muscle larvae excretory–secretory components. *International journal for parasitology* 46(13): 833-842.
- De Iudicibus S, Franca R, Martelossi S, Ventura A, Decorti G. 2011. Molecular mechanism of glucocorticoid resistance in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 17(9): 1095-1108.
- De Vries JE. 1998. The role of IL-13 and its receptor in allergy and inflammatory responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 102(2): 165-169.
- Dent LA, Strath M, Mellor AL, Sanderson CJ. 1990. Eosinophilia in transgenic mice expressing interleukin 5. *Journal of Experimental Medicine* 172(5); 1425-1431.
- Dinarello CA. 2009. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual review of immunology* 27: 519-550.
- Doherty TM, Kastelein R, Menon S, Andrade S, Coffman RL. 1993. Modulation of murine macrophage function by IL-13. *The Journal of Immunology* 151(12): 7151-7160.
- Dostert A, Heinzel T. 2004. Negative glucocorticoid receptor response elements and their role in glucocorticoid action. *Current pharmaceutical design* 10(23): 2807-2816.

- Dupouy-Camet J, Kociecka W, Bruschi F, Bolas-Fernandez F, Pozio E. 2002. Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. Expert opinion on pharmacotherapy 3(8): 1117-1130.
- Elliott DE, Summers RW, Weinstock JV. 2007. Helminths as governors of immune-mediated inflammation. International journal for parasitology 37(5): 457-464.
- Endo T, Ogushi F, Sone S. 1996. LPS-dependent cyclooxygenase-2 induction in human monocytes is down-regulated by IL-13, but not by IFN-gamma. The Journal of Immunology 156(6): 2240-2246.
- Eum SY, Maghni K, Hamid Q, Eidelman DH, Campbell H, Isogai S, Martin JG. 2003. Inhibition of allergic airways inflammation and airway hyperresponsiveness in mice by dexamethasone: role of eosinophils, IL-5, eotaxin, and IL-13. Journal of Allergy and Clinical Immunology 111(5); 1049-1061.
- Fabre V, Beiting DP, Bliss SK, Gebreselassie NG, Gagliardo LF, Lee NA, Lee JJ, Appleton JA. 2009. Eosinophil deficiency compromises parasite survival in chronic nematode infection. The Journal of Immunology 182(3); 1577-1583.
- FAO/WHO. 2014. Identifican los diez principales parásitos transmitidos por los alimentos [Online]. Disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/237578/icode/>
- Finotto S, Mekori YA, Metcalfe DD. 1997. Glucocorticoids decrease tissue mast cell number by reducing the production of the c-kit ligand, stem cell factor, by resident cells: in vitro and in vivo evidence in murine systems. Journal of Clinical Investigation 99(7); 1721-1728.
- Flammer JR, Rogatsky I. 2011. Minireview: Glucocorticoids in autoimmunity: unexpected targets and mechanisms. Molecular Endocrinology 25(7): 1075-1086.
- Flood-Page P, Phipps S, Menzies-Gow A, Ong Y, Kay AB. 2003. Effect of intravenous administration of an anti-IL-5 mAb (Mepolizumab) on allergen-induced tissue eosinophilia, the late-phase allergic reaction and the expression of a marker of

repair/remodeling in human atopic subjects. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111(2); S261.

Foster PS, Hogan SP, Ramsay AJ, Matthaei KI, Young IG. 1996. Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. *Journal of Experimental Medicine* 183(1); 195-201.

Franchimont D, Louis E, Dewe W, Martens H, Vrindts-Gevaert Y, De Groote D, Belaiche J, Geenen V. 1998. Effects of dexamethasone on the profile of cytokine secretion in human whole blood cell cultures. *Regulatory peptides* 73(1): 59-65.

Franchimont D, Galon J, Gadina M, Visconti R, Zhou Y, Aringer M, Frucht DM, Chrousos GP, O'Shea JJ. 2000. Inhibition of Th1 immune response by glucocorticoids: dexamethasone selectively inhibits IL-12-induced Stat4 phosphorylation in T lymphocytes. *The Journal of Immunology* 164 (4): 1768-1774.

Fushimi T, Okayama H, Shimura S, Saitoh H, Shirato K. 1998. Dexamethasone suppresses gene expression and production of IL-13 by human mast cell line and lung mast cells. *Journal of allergy and clinical immunology* 102(1); 134-142.

Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M. 2005. Mast cells as “tunable” effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annual Review of Immunology* 23; 749-786.

Galli SJ, Maurer M, Lantz CS. 1999. Mast cells as sentinels of innate immunity. *Current opinion in immunology* 11(1); 53-59.

Galli SJ, Nakae S, Tsai M. 2005. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nature immunology* 6(2); 135-142.

Galli SJ, Tsai M. 2010. Mast cells in allergy and infection: versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity. *European journal of immunology* 40(7); 1843-1851.

- Galon J, Franchimont D, Hiroi N, Frey G, Boettner A, Ehrhart-Bornstein M, O'Shea JJ, Chrousos GP, Bornstein SR. 2002. Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. *The FASEB Journal* 16(1): 61-71.
- García MJ, Reveles G, Muñoz JJ, Moreno MA. 2012. Utilidad del albendazol/quinfamida en el tratamiento de la fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis* en modelo Murino. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* 31: 51–61.
- Garib FY, Rizopulu AP, Kuchmiy AA, Garib VF. 2016. Inactivation of inflammasomes by pathogens regulates inflammation. *Biochemistry (Moscow)* 81(11): 1326-1339.
- Gentilini MV, Nuñez GG, Roux ME, Venturiello SM. 2011. *Trichinella spiralis* infection rapidly induces lung inflammatory response: the lung as the site of helminthocytotoxic activity. *Immunobiology* 216(9): 1054-1063.
- Gleich GJ, Loegering DA. 1984. Immunobiology of eosinophils. *Annual review of immunology* 2(1); 429-459.
- Gold AM, Despommier DD, Buck SW. 1990. Partial characterization of two antigens secreted by L1 larvae of *Trichinella spiralis*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 41(2): 187-96.
- Gottstein B, Pozio E, Nöckler K. 2009. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. *Clinical microbiology reviews* 22(1): 127-145.
- Grazia-Roncarolo M, Gregori S, Battaglia M, Bacchetta R, Fleischhauer K, Levings MK. 2006. Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans. *Immunological reviews* 212(1): 28-50.
- Grencis RK, Humphreys NE, Bancroft AJ. 2014. Immunity to gastrointestinal nematodes: mechanisms and myths. *Immunological reviews* 260(1): 183–205.

- Gridley M. 1957. Manual of Histology and special staining technique. Armed Forces. Institute of Pathology 2:57-16.
- Gruden-Movsesijan A, Ilic N, Colic M, Majstorovic I, Vasilev S, Radovic I, Sofronic-Milosavljevic LJ. 2011. The impact of *Trichinella spiralis* excretory–secretory products on dendritic cells. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases 34(5): 429-439.
- Gurish MF, Bryce PJ, Tao H, Kisselgof AB, Thornton EM, Miller HR, Friend DS, Oettgen HC. 2004. IgE enhances parasite clearance and regulates mast cell responses in mice infected with *Trichinella spiralis*. The Journal of Immunology 172(2): 1139-1145.
- Gutiérrez-Coronado Oscar, Muñoz-Carrillo JL, Miranda-Beltrán ML, Pérez-Vega MI, Soria-Fregozo C, Villalobos-Gutiérrez PT. 2012. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de resiniferatoxina en un modelo murino de inflamación inducido por Lipopolicacárido. Revista Latinoamericana de Química 2012 [Abstract] 39: 287 (Suplemento Especial).
- Guzik T, Korbust R, Adamek-Guzik T. 2003. Nitric oxide and superoxide in inflammation. J Physiol Pharmacol 54(4): 469-487.
- Handzel ZT, Busse WW, Sedgwick JB, Vrtis R, Lee WM, Kelly EAB, Gern JE. 1998. Eosinophils bind rhinovirus and activate virus-specific T cells. The Journal of Immunology 160(3); 1279-1284.
- Helmby H, Grenis RK. 2003. Contrasting roles for IL-10 in protective immunity to different life cycle stages of intestinal nematode parasites. European journal of immunology 33(9): 2382-2390.
- Helmby H, Grenis RK. 2003. IFN- γ -independent effects of IL-12 during intestinal nematode infection. The Journal of Immunology 171(7): 3691-3696.

- Hershey GKK. 2003. IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111(4): 677-690.
- Ho AS, Liu Y, Khan TA, Hsu DH, Bazan JF, Moore KW. 1993. A receptor for interleukin 10 is related to interferon receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90(23): 11267-11271.
- Horie S, Okubo Y, Hossain M, Sato E, Nomura H, Koyama S, Suzuki J, Isobe M, Sekiguchi M. 1997. Interleukin-13 but not interleukin-4 prolongs eosinophil survival and induces eosinophil chemotaxis. *Internal Medicine* 36(3): 179-185.
- Horiuchi T, Mitoma H, Harashima SI. 2010. Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology* 49(7): 1215-1228.
- Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. 2008. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *The Journal of clinical investigation* 118(4): 1311-1321.
- Hsieh CS, Heimberger AB, Gold JS, O'Garra A, Murphy KM. 1992. Differential regulation of T-helper phenotype development by interleukin-4 and interleukin-10 in an alpha-beta-T-cellreceptor transgenic system. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89(13): 6065-6069.
- Huang L, Beiting DP, Gebreselassie NG, Gagliardo LF, Ruyechan MC, Lee NA, Lee JJ, Appleton JA. 2015b. Eosinophils and IL-4 support nematode growth coincident with an innate response to tissue injury. *PLoS pathogens* 11(12); e1005347.
- Huang L, Gebreselassie NG, Gagliardo LF, Ruyechan MC, Lee NA, Lee JJ, Appleton JA. 2014. Eosinophil-derived IL-10 supports chronic nematode infection. *The Journal of Immunology* 193(8): 4178-4187.
- Huang L, Gebreselassie NG, Gagliardo LF, Ruyechan MC, Lubber KL, Lee NA, Lee JJ, Appleton JA. 2015a. Eosinophils mediate protective immunity against secondary nematode infection. *The Journal of Immunology* 194(1): 283-290.

- Ierna MX, Scales HE, Müller C, Lawrence CE. 2009. Transmembrane tumor necrosis factor alpha is required for enteropathy and is sufficient to promote parasite expulsion in gastrointestinal helminth infection. *Infection and immunity* 77(9): 3879-3885.
- Ierna MX, Scales HE, Saunders KL, Lawrence CE. 2008. Mast cell production of IL-4 and TNF may be required for protective and pathological responses in gastrointestinal helminth infection. *Mucosal immunology* 1(2): 147-155.
- Ilic N, Colic M, Gruden-Movsesijan A, Majstorovic I, Vasilev S, Sofronic-Milosavljevic LJ. 2008. Characterization of rat bone marrow dendritic cells initially primed by *Trichinella spiralis* antigens. *Parasite immunology* 30(9): 491-495.
- Ilic N, Gruden-Movsesijan A, Sofronic-Milosavljevic L. 2012. *Trichinella spiralis*: shaping the immune response. *Immunologic Research* 52(1-2): 111–119.
- Ilic N, Worthington JJ, Gruden-Movsesijan A, Travis MA, Sofronic-Milosavljevic L, Grecis RK. 2011. *Trichinella spiralis* antigens prime mixed Th1/Th2 response but do not induce de novo generation of Foxp3+ T cells in vitro. *Parasite immunology* 33(10): 572-582.
- Irani AA, Nilsson G, Ashman LK, Schwartz LB. 1995. Dexamethasone inhibits the development of mast cells from dispersed human fetal liver cells cultured in the presence of recombinant human stem cell factor. *Immunology* 84(1); 72.
- Irani AM, Nilsson G, Miettinen U, Craig SS, Ashman LK, Ishizaka T, Zsebo KM, Schwartz LB. 1992. Recombinant human stem cell factor stimulates differentiation of mast cells from dispersed human fetal liver cells. *Blood* 80(12); 3009-3021.
- Ishikawa N, Goyal PK, Mahida YR, Li KF, Wakelin D. 1998. Early cytokine responses during intestinal parasitic infections. *Immunology* 93(2): 257-263.
- Jeong HJ, Na HJ, Hong SH, Kim HM. 2003. Inhibition of the stem cell factor-induced migration of mast cells by dexamethasone. *Endocrinology* 144(9); 4080-4086.

- Kapel CM, Webster P, Gamble HR. 2005. Muscle distribution of sylvatic and domestic *Trichinella* larvae in production animals and wildlife. *Veterinary parasitology* 132: 101–105.
- Kaplan MH, Schindler U, Smiley ST, Grusby MJ. 1996. Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for the development of Th2 cells. *Immunity* 4(3): 313-319.
- Kawakami T, Galli SJ. 2002. Regulation of mast-cell and basophil function and survival by IgE. *Nature Reviews Immunology* 2(10); 773-786.
- Kita H. 1996. The eosinophil: a cytokine-producing cell? *Journal of allergy and clinical immunology* 97(4); 889-892.
- Knight PA, Brown JK, Pemberton AD. 2008. Innate immune response mechanisms in the intestinal epithelium: potential roles for mast cells and goblet cells in the expulsion of adult *Trichinella spiralis*. *Parasitology* 135(6): 655-70.
- Knight PA, Wright SH, Lawrence CE, Paterson YY, Miller HR. 2000. Delayed Expulsion of the Nematode *Trichinella spiralis* In Mice Lacking the Mucosal Mast Cell–Specific Granule Chymase, Mouse Mast Cell Protease-1. *Journal of Experimental Medicine* 192(12); 1849-1856.
- Knol EF, Olszewski M. 2011. Basophils and mast cells: Underdog in immune regulation? *Immunology letters* 138(1); 28-31.
- Koenderman L, Buurman W, Daha MR. 2014. The innate immune response. *Immunology letters* 162(2): 95-102.
- Kopf M, Brombacher F, Hodgkin PD, Ramsay AJ, Milbourne EA, Dai WJ, Ovington KS, Behm CA, Köhler G, Young IG, Matthaei KI. 1996. IL-5-deficient mice have a developmental defect in CD5+ B-1 cells and lack eosinophilia but have normal antibody and cytotoxic T cell responses. *Immunity* 4(1); 15-24.

- Koranteng RD, Swindle EJ, Davis BJ, Dearman RJ, Kimber I, Flanagan BF, Coleman JW. 2004. Differential regulation of mast cell cytokines by both dexamethasone and the p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) inhibitor SB203580. *Clinical & Experimental Immunology* 137(1): 81-87.
- Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shen M, Shah NK, Langer JA, Sheikh F, Dickensheets H, Donnelly RP. 2003. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nature immunology* 4(1): 69-77.
- Krivokapich SJ, Pozio E, Gatti GM, Prous CL, Ribicich M, Marucci G, La Rosa G, Confalonieri V. 2012. *Trichinella patagoniensis* n. sp. (Nematoda), a new encapsulated species infecting carnivorous mammals in South America. *International journal for parasitology* 42(10): 903-10.
- Lamas AM, Leon OG, Schleimer RP. 1991. Glucocorticoids inhibit eosinophil responses to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *The Journal of Immunology* 147(1): 254-259.
- Lasa M, Brook M, Saklatvala J, Clark AR. 2001. Dexamethasone destabilizes cyclooxygenase 2 mRNA by inhibiting mitogen-activated protein kinase p38. *Molecular and cellular biology* 21(3): 771-780.
- Laverde LM, Builes LM, Masso CJ. 2009. Detección de *Trichinella spiralis* en cerdos faenados en dos plantas de beneficio en el municipio de bello. *Revista CES. Medicina Veterinaria y Zootecnia* 4(2): 47-56.
- Lawrence CE, Paterson J, Higgins LM, MacDonald TT, Kennedy MW, Garside P. 1998. IL-4-regulated enteropathy in an intestinal nematode infection. *European journal of immunology* 28(9): 2672-2684.
- Lawrence CE, Paterson JC, Wei XQ, Liew FY, Garside P, Kennedy MW. 2000. Nitric oxide mediates intestinal pathology but not immune expulsion during *Trichinella spiralis* infection in mice. *The Journal of Immunology* 164(8): 4229-4234.

- Lawrence CE, Paterson YY, Wright SH, Knight PA, Miller HR. 2004. Mouse mast cell protease-1 is required for the enteropathy induced by gastrointestinal helminth infection in the mouse. *Gastroenterology* 127(1): 155-165.
- Lee YH, Im SA, Kim JW, Lee CK. 2016. Vanilloid Receptor 1 Agonists, Capsaicin and Resiniferatoxin, Enhance MHC Class I-restricted Viral Antigen Presentation in Virus-infected Dendritic Cells. *Immune network* 16(4): 233-241.
- Lentsch AB, Shanley TP, Sarma V, Ward PA. 1997. In vivo suppression of NF-kappa B and preservation of I kappa B alpha by interleukin-10 and interleukin-13. *Journal of Clinical Investigation* 100(10): 2443-2448.
- Leung L, Cahill CM. 2010. TNF- α and neuropathic pain-a review. *Journal of neuroinflammation* 7(1): 1-27.
- Levi-Schaffer F, Temkin V, Malamud V, Feld S, Zilberman Y. 1998. Mast cells enhance eosinophil survival in vitro: role of TNF- α and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *The Journal of Immunology* 160(11): 5554-5562.
- Liu Y, Wei SH, Ho AS, de Waal Malefyt R, Moore KW. 1994. Expression cloning and characterization of a human IL-10 receptor. *The Journal of Immunology* 152(4): 1821-1829.
- Lopez AF, Begley CG, Williamson DJ, Warren DJ, Vadas MA, Sanderson CJ. 1986. Murine eosinophil differentiation factor. An eosinophil-specific colony-stimulating factor with activity for human cells. *Journal of Experimental Medicine* 163(5): 1085-1099.
- Lopez AF, Sanderson CJ, Gamble JR, Campbell HD, Young IG, Vadas MA. 1988. Recombinant human interleukin 5 is a selective activator of human eosinophil function. *Journal of Experimental Medicine* 167(1): 219-224.
- Luttmann W, Knoechel B, Foerster M, Matthys H, Virchow JC, Kroegel C. 1996. Activation of human eosinophils by IL-13. Induction of CD69 surface antigen, its

- relationship to messenger RNA expression, and promotion of cellular viability. *The Journal of Immunology* 157(4): 1678-1683.
- MacKenzie JR, Mattes J, Dent LA, Foster PS. 2001. Eosinophils promote allergic disease of the lung by regulating CD4+ Th2 lymphocyte function. *The Journal of Immunology* 167(6): 3146-3155.
- MacPherson JC, Comhair SA, Erzurum SC, Klein DF, Lipscomb MF, Kavuru MS, Samoszuk MK, Hazen SL. 2001. Eosinophils are a major source of nitric oxide-derived oxidants in severe asthma: characterization of pathways available to eosinophils for generating reactive nitrogen species. *The Journal of Immunology* 166(9): 5763-5772.
- Maizels RM, Hewitson JP, Smith KA. 2012. Susceptibility and immunity to helminth parasites. *Current opinion in immunology* 24(4): 459-66.
- Maizels RM, Yazdanbakhsh M. 2003. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nature Reviews Immunology* 3(9): 733-744.
- Marzocco S, Di Paola R, Serraino I, Sorrentino R, Meli R, Mattaceraso G, Cuzzocrea S, Pinto A, Autore G. (2004). Effect of methylguanidine in carrageenan-induced acute inflammation in the rats. *European journal of pharmacology* 484(2): 341-350.
- Mawhorter SD, Kazura JW, Boom WH. 1994. Human eosinophils as antigen-presenting cells: relative efficiency for superantigen-and antigen-induced CD4+ T-cell proliferation. *Immunology* 81(4): 584-91.
- McDermott JR, Humphreys NE, Forman SP, Donaldson DD, Grencis RK. 2005. Intraepithelial NK cell-derived IL-13 induces intestinal pathology associated with nematode infection. *The Journal of Immunology* 175(5): 3207-3213.
- McSorley HJ, Maizels RM. 2012. Helminth infections and host immune regulation. *Clinical microbiology reviews* 25(4): 585-608.

- Mekori YA, Metcalfe DD. 2000. Mast cells in innate immunity. *Immunological reviews* 173(1): 131-140.
- Meraz MA, White JM, Sheehan KC, Bach EA, Rodig SJ, Dighe AS, Kaplan DH, Riley JK, Greenlund AC, Campbell D, Carver-Moore K, DuBois RN, Clark R, Aguet M, Schreiber RD. 1996. Targeted disruption of the Stat1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in the JAK–STAT signaling pathway. *Cell* 84(3): 431-442.
- Ming L, Peng RY, Zhang L, Zhang CL, Lv P, Wang ZQ, Cui J, Ren HJ. 2016. Invasion by *Trichinella spiralis* infective larvae affects the levels of inflammatory cytokines in intestinal epithelial cells *in vitro*. *Experimental parasitology* 170: 220-226.
- Mishra A, Hogan SP, Lee JJ, Foster PS, Rothenberg ME. 1999. Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract. *Journal of Clinical Investigation* 103(12): 1719.
- Mitreva M, Jasmer DP, Appleton J, Martin J, Dante M, Wylie T, Clifton SW, Waterston RH, McCarter JP. 2004. Gene discovery in the adenophorean nematode *Trichinella spiralis*: an analysis of transcription from three life cycle stages. *Molecular and biochemical parasitology* 137(2): 277-91.
- Moncada S, Erusalimsky JD. 2002. OPINION: Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? *Nature reviews. Molecular cell biology* 3(3): 214-220.
- Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. 2001. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology* 19(1): 683-765.
- Moreno A, Maldonado C, Chávez Ruvalcaba I, Reveles RG, Quiroz Núñez Z, Muñoz JJ. 2012. El estudio de *Trichinella spiralis* en modelos experimentales. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 13(7): 1-12.

- Moreno García MA, Maldonado Tapia CH, García Mayorga EA, Reveles Hernández RG, Muñoz Escobedo JJ. 2009. Fase Intestinal de *Trichinella spiralis* en modelo murino. *Acta Biológica Colombiana* 14(1): 203-210
- Mori T, Abe N, Saito K, Toyama H, Endo Y, Ejima Y, Yamauchi M, Goto M, Mushiake H, Kazama I. 2016. Hydrocortisone and dexamethasone dose-dependently stabilize mast cells derived from rat peritoneum. *Pharmacological Reports* 68(6): 1358-1365.
- Moynihan JA, Callahan TA, Kelley SP, Campbell LM. 1998. Adrenal Hormone Modulation of Type 1 and Type 2 Cytokine Production by Spleen Cells: Dexamethasone and Dehydroepiandrosterone Suppress Interleukin-2, Interleukin-4, and Interferon- γ Production in Vitro. *Cellular immunology* 184(1): 58-64.
- Mozo L, Gayo A, Suárez A, Rivas D, Zamorano J, Gutiérrez C. 1998. Glucocorticoids inhibit IL-4 and mitogen-induced IL-4R α chain expression by different posttranscriptional mechanisms. *Journal of allergy and clinical immunology* 102(6): 968-976.
- Mozo L, Suarez A, Gutierrez C. 2004. Glucocorticoids up-regulate constitutive interleukin-10 production by human monocytes. *Clinical & Experimental Allergy* 34(3): 406-412.
- Muchamuel T, Menon S, Pisacane P, Howard MC, Cockayne DA. 1997. IL-13 protects mice from lipopolysaccharide-induced lethal endotoxemia: correlation with down-modulation of TNF- α , IFN- γ , and IL-12 production. *The Journal of Immunology* 158(6): 2898-2903.
- Mühl H, Pfeilschifter J. 2003. Anti-inflammatory properties of pro-inflammatory interferon- γ . *International immunopharmacology* 3(9): 1247-1255.
- Muñoz JL. 2013. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de la resinferatoxina en fase intestinal en la infección por *Trichinella spiralis* en un modelo murino. Zacatecas,

México. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. 120 páginas.

- Muñoz-Carrillo JL, Muñoz-Escobedo JJ, Maldonado-Tapia CH, Chávez-Ruvalcaba F, Moreno-García MA. 2017. Resiniferatoxin lowers TNF- α , NO and PGE₂ in the intestinal phase and the parasite burden in the muscular phase of *Trichinella spiralis* infection. *Parasite immunology* 39(1); 1-14.
- Murrell KD. 2016. The dynamics of *Trichinella spiralis* epidemiology: Out to pasture? *Veterinary parasitology* 231: 92-96.
- Nagano I, Wu Z, Takahashi Y. 2009. Functional genes and proteins of *Trichinella spp.* *Parasitology research* 104(2): 197-207.
- Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. 1999. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. *Annual review of immunology* 17(1); 701-738.
- Neumann B, Emmanuilidis K, Stadler M, Holzmann B. 1998. Distinct functions of interferon-gamma for chemokine expression in models of acute lung inflammation. *Immunology* 95(4): 512–521.
- Nilius B, Szallasi A. 2014. Transient receptor potential channels as drug targets: from the science of basic research to the art of medicine. *Pharmacological reviews* 66(3): 676-814.
- Nixon M, Upreti R, Andrew R. 2012. 5 α -Reduced glucocorticoids: a story of natural selection. *Journal of Endocrinology* 212(2): 111-127.
- Oakley RH, Cidlowski JA. 2011. Cellular processing of the glucocorticoid receptor gene and protein: new mechanisms for generating tissue-specific actions of glucocorticoids. *Journal of Biological Chemistry* 286(5): 3177-3184.

- Oettgen HC, Geha RS. 2001. IgE regulation and roles in asthma pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 107(3): 429-441.
- O'garra A, Vieira P. 2004. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nature medicine* 10(8): 801-805.
- Oh CK, Geba GP, Molfino N. 2010. Investigational therapeutics targeting the IL-4/IL-13/STAT-6 pathway for the treatment of asthma. *European Respiratory Review* 19(115), 46-54.
- Ortega-Pierres MG, Yopez-Mulia L, Homan W, Gamble HR, Lim PL, Takahashi Y, Wassom DI, Appleton JA. 1996. Workshop on a detailed characterization of *Trichinella spiralis* antigens: a platform for future studies on antigens and antibodies to this parasite. *Parasite immunology* 18(6): 273-284.
- Ortega-Pierres MG. 2017. Triquinelosis. *Revista Ciencia-Academia Mexicana de Ciencias*. 68(1): 74-77.
- Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. 2011. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*: 29; 71-109.
- Owen R. 1835. Description of a microscopic antigen infesting the muscle of human body. *Trans Zool Sci*. 1: 315-324.
- Pal M, Angaru S, Kodimuthali A, Dhingra N. 2009. Vanilloid receptor antagonists: emerging class of novel anti-inflammatory agents for pain management. *Current pharmaceutical design* 15(9): 1008-1026.
- Palker TJ, Dong G, Leitner WW. 2010. Mast cells in innate and adaptive immunity to infection. *European journal of immunology* 40(1); 13-18.
- Parameswaran N, Patial S. 2010. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Critical ReviewsTM in Eukaryotic Gene Expression* 20(2): 87–103.

- Pestka S, Krause CD, Walter MR. 2004. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunological reviews* 202(1): 8-32.
- Piekarska J, Szczypka M, Michalski A, Obminska-Mrukowicz B, Gorczykowski M. 2010. The effect of immunomodulating drugs on the percentage of apoptotic and necrotic lymphocytes in inflammatory infiltrations in the muscle tissue of mice infected with *Trichinella spiralis*. *Polish journal of veterinary sciences* 13(2); 233-240.
- Pope SM, Brandt EB, Mishra A, Hogan SP, Zimmermann N, Matthaei KI, Foster PS, Rothenberg ME. 2001. IL-13 induces eosinophil recruitment into the lung by an IL-5–and eotaxin-dependent mechanism. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 108(4): 594-601.
- Pozio E, Paterlini F, Pedarra C, Sacchi L, Bugarini R, Goffredo E, Boni P. 1999. Predilection sites of *Trichinella spiralis* larvae in naturally infected horses. *Journal of helminthology* 73: 233–237.
- Pozio E, Zarlenga DS. 2013. New pieces of the *Trichinella* puzzle. *International journal for parasitology* 43(12-13): 983-97.
- Pozio E. 2007. World distribution of *Trichinella spp.* infections in animals and humans. *Veterinary Parasitology* 149(1-2): 3-21.
- Pozio E. 2014. Searching for *Trichinella*: not all pigs are created equal. *Trends in parasitology* 30(1): 4-11.
- Ray A, Prefontaine KE. 1994. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91(2): 752-756.
- Reason AJ, Ellis LA, Appleton JA, Wisnewski N, Grieve RB, McNeil M, Wassom DL, Morris HR, Dell A. 1994. Novel tyvelose-containing tri- and tetra-antennary N-glycans in the immunodominant antigens of the intracellular parasite *Trichinella spiralis*. *Glycobiology* 4(5): 593-603.

- Richards DF, Fernandez M, Caulfield J, Hawrylowicz CM. 2000. Glucocorticoids drive human CD8+ T cell differentiation towards a phenotype with high IL-10 and reduced IL-4, IL-5 and IL-13 production. *European journal of immunology* 30(8): 2344-2354.
- Rider LG, Hirasawa N, Santini F, Beaven MA. 1996. Activation of the mitogen-activated protein kinase cascade is suppressed by low concentrations of dexamethasone in mast cells. *The Journal of Immunology* 157(6); 2374-2380.
- Rivellese F, Nerviani A, Rossi FW, Marone G, Matucci-Cerinic M, de Paulis A, Pitzalis C. 2017. Mast cells in rheumatoid arthritis: Friends or foes? *Autoimmunity Reviews* 16(6); 557-563.
- Rogerio AP, Anibal FF. 2012. Role of leukotrienes on protozoan and helminth infections. *Mediators of inflammation* 2012: 595694.
- Romarís F, Escalante M, Lorenzo S, Bonay P, Gárate T, Leiro J, Ubeira FM. 2002. Monoclonal antibodies raised in Btk (xid) mice reveal new antigenic relationships and molecular interactions among gp53 and other *Trichinella* glycoproteins. *Molecular and biochemical parasitology* 125(1-2): 173-183.
- Rothenberg ME, Hogan SP. 2006. The eosinophil. *Annual review of immunology* 24: 147-174.
- Rothenberg ME, Pomerantz JL, Owen WF, Avraham S, Soberman RJ, Austen KF, Stevens RL. 1988. Characterization of a human eosinophil proteoglycan, and augmentation of its biosynthesis and size by interleukin 3, interleukin 5, and granulocyte/macrophage colony stimulating factor. *Journal of Biological Chemistry* 263(27); 13901-13908.
- Rothenberg ME. 1998. Eosinophilia. *New England Journal of Medicine* 338(22); 1592-1600.

- Rothenberg ME. 2004. Eosinophilic gastrointestinal disorders (EGID). *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 113(1): 11-28.
- Roy A, Sawesi O, Pettersson U, Dagälv A, Kjellén L, Lundén A, Åbrink M. 2016. Serglycin proteoglycans limit enteropathy in *Trichinella spiralis*-infected mice. *BMC immunology* 17(1): 15.
- Saklatvala J. 2002. Glucocorticoids: do we know how they work? *Arthritis Research & Therapy* 4(3): 146–150.
- Salazar H, Jara-Oseguera A, Rosenbaum T. 2009. El canal TRPV1 como diana para tratar el dolor. *Revista de neurología* 48(7): 357-364.
- Sanderson CJ. 1992. Interleukin-5, eosinophils, and disease. *Blood* 79(12): 3101-3109.
- Saraiva M, O'garra A. 2010. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nature reviews. Immunology* 10(3): 170.
- Scales HE, Ierna MX, Lawrence CE. 2007. The role of IL-4, IL-13 and IL-4R α in the development of protective and pathological responses to *Trichinella spiralis*. *Parasite immunology* 29(2): 81-91.
- Scheinman RI, Gualberto A, Jewell CM, Cidlowski JA, Baldwin AS. 1995. Characterization of mechanisms involved in transrepression of NF-kappa B by activated glucocorticoid receptors. *Molecular and cellular biology* 15(2): 943-953.
- Seder RA, Paul WE, Davis MM, De ST, Groth BF. 1992. The presence of interleukin-4 during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4C T-cells from T-cell receptor transgenic mice. *Journal of Experimental Medicine* 176(4): 1091-1098.
- Seder RA, Paul WE. 1994. Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+ T cells. *Annual review of immunology* 12(1): 635-673.

- Serra HA, Roganovich JM, Rizzo LF. 2012. Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional. De lo molecular al uso clínico. *MEDICINA (Buenos Aires)* 72(2): 158-170.
- Sewell WA, Scurr LL, Orphanides H, Kinder S, Ludowyke RI. 1998. Induction of interleukin-4 and interleukin-5 expression in mast cells is inhibited by glucocorticoids. *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 5(1); 18-23.
- Sher A, Coffman RL, Hieny S, Cheever AW. 1990. Ablation of eosinophil and IgE responses with anti-IL-5 or anti-IL-4 antibodies fails to affect immunity against *Schistosoma mansoni* in the mouse. *The Journal of Immunology* 145(11); 3911-3916.
- Sher A, Pearce E, Kaye P. 2003. Shaping the immune response to parasites: role of dendritic cells. *Current opinion in immunology* 15(4): 421-429.
- Shi HZ, Humbles A, Gerard C, Jin Z, Weller PF. 2000. Lymph node trafficking and antigen presentation by endobronchial eosinophils. *Journal of Clinical Investigation* 105(7); 945-53.
- Shi HZ. 2004. Eosinophils function as antigen-presenting cells. *Journal of leukocyte biology* 76(3); 520-527.
- Shimoni Z, Klein Z, Weiner P, Mocch PFM. 2007. The use of prednisone in the treatment of trichinellosis. *The Israel Medical Association Journal: IMAJ* 9: 537-539.
- Shoemaker J, Saraiva M, O'Garra A. 2006. GATA-3 directly remodels the IL-10 locus independently of IL-4 in CD4+ T cells. *The Journal of Immunology* 176(6): 3470-3479.
- SINAVE: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. 2016. Boletín Epidemiológico 47(33): 1-68. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/170938/sem47.pdf>

- Singh S, Natarajan K, Aggarwal BB. 1996. Capsaicin (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) is a potent inhibitor of nuclear transcription factor-kappa B activation by diverse agents. *The Journal of Immunology* 157(10): 4412-4420.
- Smith SJ, Piliponsky AM, Rosenhead F, Elchalal U, Nagler A, Levi-Schaffer F. 2002. Dexamethasone inhibits maturation, cytokine production and FcεRI expression of human cord blood-derived mast cells. *Clinical & Experimental Allergy* 32(6): 906-913.
- Sofronic-Milosavljevic L, Ilic N, Pinelli E, Gruden-Movsesijan A. 2015. Secretory products of *Trichinella spiralis* muscle larvae and immunomodulation: implication for autoimmune diseases, allergies, and malignancies. *Journal of immunology research* 2015: 1-14.
- Sofronic-Milosavljevic LJ, Radovic I, Ilic N, Majstorovic I, Cvetkovic J, Gruden-Movsesijan A. 2013. Application of dendritic cells stimulated with *Trichinella spiralis* excretory-secretory antigens alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Medical microbiology and immunology* 202(3): 239-49.
- Stadnyk AW, Kearsey JA. 1996. Pattern of proinflammatory cytokine mRNA expression during *Trichinella spiralis* infection of the rat. *Infection and immunity* 64(12): 5138-5143.
- Su XZ, Prestwood AK, McGraw RA. 1991. Cloning and expression of complementary DNA encoding an antigen of *Trichinella spiralis*. *Molecular and biochemical parasitology* 45(2): 331-6.
- Sun H, Yang T, Li Q, Zhu Z, Wang L, Bai G, Li D, Li Q, Wang W. 2012. Dexamethasone and vitamin B12 synergistically promote peripheral nerve regeneration in rats by upregulating the expression of brain-derived neurotrophic factor. *Archives of medical science: AMS* 8(5): 924-930.
- Suurmond J, Rivellese F, Dorjée AL, Bakker AM, Rombouts YJ, Rispens T, Wolbink G, Zaldumbide A, Hoeben RC, Huizinga TW, Toes RE. 2014. Toll-like receptor

triggering augments activation of human mast cells by anti-citrullinated protein antibodies. *Annals of the rheumatic diseases* 74(10); 1915-23.

Suzuki T, Sasaki T, Takagi H, Sato K, Ueda K. 2008. The effectors responsible for gastrointestinal nematode parasites, *Trichinella spiralis*, expulsion in rats. *Parasitology research* 103(6): 1289-1295.

Takatsu K, Takaki S, Hitoshi Y. 1994. Interleukin-5 and its receptor system: implications in the immune system and inflammation. *Advances in immunology* 57; 145-190.

Takeda K, Clausen BE, Kaisho T, Tsujimura T, Terada N, Förster I, Akira S. (1999). Enhanced Th1 activity and development of chronic enterocolitis in mice devoid of Stat3 in macrophages and neutrophils. *Immunity*, 10(1), 39-49.

Teng MW, Bowman EP, McElwee JJ, Smyth MJ, Casanova JL, Cooper AM, Cua DJ. 2015. IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nature medicine* 21(7): 719-729.

Theodoropoulos G, Petrakos G. 2010. *Trichinella spiralis*: differential effect of host bile on the in vitro invasion of infective larvae into epithelial cells. *Experimental parasitology* 126 (4): 441-444.

Thornhill MH, Wellicome SM, Mahiouz DL, Lanchbury JSS, Kyan-Aung U, Haskard DO. 1991. Tumor necrosis factor combines with IL-4 or IFN-gamma to selectively enhance endothelial cell adhesiveness for T cells. The contribution of vascular cell adhesion molecule-1-dependent and-independent binding mechanisms. *The Journal of Immunology* 146(2): 592-598.

Tominaga A, Takaki S, Koyama N, Katoh S, Matsumoto R, Migita M, Hitoshi Y, Hosoya Y, Yamauchi S, Kanai Y. 1991. Transgenic mice expressing a B cell growth and differentiation factor gene (interleukin 5) develop eosinophilia and autoantibody production. *Journal of Experimental Medicine* 173(2); 429-437.

- Ueda K, Tsuji F, Hirata T. 2008. Preventive effect of TRPV1 agonists capsaicin and resiniferatoxin on ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *Journal of cardiovascular pharmacology* 51(5): 513-520.
- Uings I, Puxeddu I, Temkin V, Smith SJ, Fattah D, Ray KP, Levi-Schaffer F. 2005. Effects of dexamethasone on TNF-alpha-induced release of cytokines from purified human blood eosinophils. *Clinical and Molecular Allergy* 3(1): 5.
- Urb M, Sheppard DC. 2012. The role of mast cells in the defence against pathogens. *PLoS pathogens* 8(4); e1002619.
- Urban JF, Schopf L, Morris SC, Orekhova T, Madden KB, Betts CJ, Gamble HR, Byrd C, Donaldson D, Else K, Finkelman FD. 2000. Stat6 signaling promotes protective immunity against *Trichinella spiralis* through a mast cell-and T cell-dependent mechanism. *The Journal of Immunology* 164(4): 2046-2052.
- Vallance BA, Blennerhassett PA, Deng Y, Matthaei KI, Young IG, Collins SM. 1999. IL-5 contributes to worm expulsion and muscle hypercontractility in a primary *T. spiralis* infection. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 277(2); G400-G408.
- Vallance BA, Matthaei KI, Sanovic S, Young IG, Collins SM. 2000. Interleukin-5 deficient mice exhibit impaired host defence against challenge *Trichinella spiralis* infections. *Parasite Immunology* 22(10): 487-492.
- Van Die I, Cummings RD. 2010. Glycan gimmickry by parasitic helminths: a strategy for modulating the host immune response? *Glycobiology* 20(1): 2-12.
- Venge P, Byström J, Carlson M, Håkansson L, Karawaczyk M, Peterson C, Sevéus L, Trulsson A. 1999. Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clinical and experimental allergy* 29; 1172-1186.

- Verhoef CM, van Roon JA, Vianen ME, Lafeber FP, Bijlsma JW. 1999. The immune suppressive effect of dexamethasone in rheumatoid arthritis is accompanied by upregulation of interleukin 10 and by differential changes in interferon γ and interleukin 4 production. *Annals of the rheumatic diseases* 58(1): 49-54.
- Wang LJ, Cao Y, Shi HN. 2008. Helminth infections and intestinal inflammation. *World journal of gastroenterology: WJG* 14(33): 5125-5132.
- Warbrick EV, Thomas AL, Williams CMM. 1997. The effects of cyclosporin A, dexamethasone and other immunomodulatory drugs on induced expression of IL-3, IL-4 and IL-8 mRNA in a human mast cell line. *Toxicology* 116(1-3): 211-218.
- Wedemeyer J, Tsai M, Galli SJ. 2000. Roles of mast cells and basophils in innate and acquired immunity. *Current opinion in immunology* 12(6): 624-631.
- Weller PF. 1994. Eosinophils: structure and functions. *Current opinion in immunology* 6(1): 85-90.
- Wershil BK, Furuta GT, Lavigne JA, Choudhury AR, Wang ZS, Galli SJ. 1995. Dexamethasone or cyclosporin A suppress mast cell-leukocyte cytokine cascades. Multiple mechanisms of inhibition of IgE-and mast cell-dependent cutaneous inflammation in the mouse. *The Journal of Immunology* 154(3): 1391-1398.
- Wink DA, Hines HB, Cheng RYS, Switzer CH, Flores-Santana W, Vitek MP, Ridnour LA, Colton CA. 2011. Nitric oxide and redox mechanisms in the immune response. *Journal of leukocyte biology* 89(6): 873-891.
- Wu W, Chen Y, Hazen SL. 1999. Eosinophil peroxidase, nitrates, protein tyrosyl residues. Implications for oxidative damage by nitrating intermediates in eosinophilic inflammatory disorders. *Journal of Biological Chemistry* 274(36): 25933-25944.
- Wu Z, Nagano I, Nakada T, Takahashi Y. 2002. Expression of excretory and secretory protein genes of *Trichinella* at muscle stage differs before and after cyst formation. *Parasitology International* 51(2): 155-61.

- Wu Z, Sofronic-Milosavljevic L, Nagano I, Takahashi Y. 2008. *Trichinella spiralis*: nurse cell formation with emphasis on analogy to muscle cell repair. *Parasites & vectors* 1(1): 1-127.
- Wullaert A, Bonnet MC, Pasparakis M. 2011. NF- κ B in the regulation of epithelial homeostasis and inflammation. *Cell research* 21(1): 146-158.
- Wynn TA. 2003. IL-13 effector functions. *Annual review of immunology* 21(1): 425-456.
- Yamaguchi M, Hirai K, Komiya A, Miyamasu M, Furumoto Y, Teshima R, Ohta K, Morita Y, Galli SJ, Ra C, Yamamoto K. 2001. Regulation of mouse mast cell surface Fc ϵ RI expression by dexamethasone. *International immunology* 13(7): 843-851.
- Yépez-Mulia L, Hernández-Bello R, Arizmendi-Puga N, Fonseca-Liñán R, Ortega-Pierres G. 2007. Contributions to the study of *Trichinella spiralis* TSL-1 antigens in host immunity. *Parasite immunology* 29(12): 661-70.
- Yu YR, Deng MJ, Lu WW, Jia MZ, Wu W, Qi YF. 2013. Systemic cytokine profiles and splenic toll-like receptor expression during *Trichinella spiralis* infection. *Experimental parasitology* 134(1): 92-101.
- Zaph C, Cooper PJ, Harris NL. 2014. Mucosal immune responses following intestinal nematode infection. *Parasite immunology* 36(9): 439-452.
- Zarlenga DS, Gamble HR. 1990. Molecular cloning and expression of an immunodominant 53-kDa excretory-secretory antigen from *Trichinella spiralis* muscle larvae. *Molecular and Biochemical Parasitology* 42(2): 165-74.
- Zarlenga DS, Gamble HR. 1995. Molecular cloning and expression of an immunodominant 53-kDa excretory-secretory antigen from *Trichinella spiralis* muscle larvae. *Molecular and Biochemical Parasitology* 72(1-2): 253.

Zhu J, Min B, Hu-Li J, Watson CJ, Grinberg A, Wang Q, Killeen N, Urban JF Jr, Guo L, Paul WE. 2004. Conditional deletion of Gata3 shows its essential function in TH1-TH2 responses. *Nature immunology* 5(11): 1157.

Zimmermann N1, Hershey GK, Foster PS, Rothenberg ME. 2003. Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111(2); 227-242.

Zurawski G, De Vries JE. 1994. Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunology today* 15(1): 19-26.

XVII. RESUMEN BIOGRÁFICO

M. en C. José Luis Muñoz Carrillo

Candidato para el Grado de

Doctor en Ciencias con Especialidad en Microbiología

Tesis: EVALUACIÓN DEL PAPEL INMUNOMODULADOR DE LA RESINIFERATOXINA DURANTE LA RESPUESTA INMUNE PRIMARIA A NIVEL INTESTINAL DE UN MODELO MURINO INFECTADO CON *Trichinella spiralis*.

Campo de estudio: Ciencias Biológicas, Inmunología, Farmacología, Parasitología y Biomedicina.

17.1. Formación académica

- Egresado de la Universidad Autónoma de Zacatecas, obteniendo el grado de **Maestro en Ciencias Biológicas con Orientación en Biomedicina** en 2013, con Reconocimiento Institucional por el Mejor Promedio de Generación.
- Egresado de la Universidad Autónoma de Zacatecas, obteniendo el grado de **Licenciado en Químico Farmacéutico Biólogo** en 2009, con reconocimiento a promedio sobresaliente.
- Egresado del Colegio de Estudios Científicos y Tecnológicos del Estado de Guanajuato, obteniendo el grado de **Técnico Químico Industrial** en 2002, con reconocimiento a promedio sobresaliente.

17.2. Publicaciones derivadas de la Tesis de Doctorado:

1. **Muñoz-Carrillo JL, Contreras-Cordero JF, Muñoz-López JL, Maldonado-Tapia CH, Muñoz-Escobedo JJ, Moreno-García MA. 2017. Resiniferatoxin modulates the Th1 immune response and protects the host during intestinal nematode infection. Parasite Immunology 39(9); 1-16. DOI: 10.1111/pim.12448. FI: 2.493**

2. **Muñoz-Carrillo JL**, Contreras-Cordero JF, Muñoz-López JL, Maldonado-Tapia CH, Muñoz-Escobedo JJ, Moreno-García MA. 2017. **Cover Image Volume 39, Issue 9**. Parasite Immunology, 39(9). DOI: 10.1111/pim.12457. FI: 2.493
3. **Muñoz-Carrillo JL**, Muñoz-López JL, Muñoz-Escobedo JJ, Maldonado-Tapia CH, Gutiérrez-Coronado O, Contreras-Cordero JF, Moreno-García MA. 2017. **Therapeutical effects of resiniferatoxin related with immunological responses for intestinal inflammation in trichinellosis**. Korean Journal of Parasitology, **ACEPTADO** para publicación.
4. **Muñoz-Carrillo JL**, Muñoz-López JL, Contreras-Cordero JF, Moreno-García MA. 2017. **Resiniferatoxin promotes worm expulsion in *T. spiralis*-infected rats by Th2-modulation cytokines**. Parasitology Research, FI: 2.392, en proceso de envío para revisión y publicación.
5. **José Luis Muñoz Carrillo**, Flor Pamela Castro García, Oscar Gutiérrez Coronado, María Alejandra Moreno García, Juan Francisco Contreras Cordero. 2017. **Chapter title: Physiology and Pathology of Infection: Innate immune response against pathogens**, Book: Physiology and Pathology of Immunology, Editorial InTech. ISBN 978-953-51-5483-9. **ACEPTADO**, en proceso de edición publicación online noviembre-diciembre 2017, y versión impresa diciembre 2017-enero 2018.

17.3. Publicaciones secundarias relacionadas al Doctorado:

1. Chavez Ruvalcaba F, Chavez Ruvalcaba MI, Hernandez Luna CE, Munoz Escobedo JJ, **Munoz Carrillo JL**, Moreno Garcia MA. 2017. **Evaluation of Anti-*Trichinella spiralis* Obtained by Sublingual and Conventional Immunizations with the 45kDa Protein**. Acta Biológica Colombiana 22(2); 149-156. DOI: 10.15446/abc.v22n2.56809.
2. Chávez-Ruvalcaba Francisca, Chávez-Ruvalcaba Isabel, Muñoz-Escobedo José Jesús, **Muñoz-Carrillo José Luis**, Moreno-García Alejandra. 2017. **Comparative analysis of the protective effect of sublingual and parenteral administration of the 45 kDa protein of *Trichinella spiralis***. International Journal of Infection. EN REVISIÓN.

17.4. Distinciones y premios durante estudios de Doctorado:

1. **RECONOCIMIENTO POR TRAYECTORIA ACADÉMICA COMO JOVEN INVESTIGADOR** por la **Cámara de Diputados de LXIII Legislatura**, León Guanajuato, 30 de septiembre 2017.
2. **MIEMBRO DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGÍA (SMI)**, como estudiante de posgrado periodo 2015-2016. Actualmente miembro activo de la SMI 2017.
3. **PRIMER LUGAR** en el Concurso de Carteles Científicos en el 16° Seminario de Investigación, con el trabajo científico titulado **“Evaluación del papel inmunomodulador de la resiniferatoxina durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal de un modelo murino infectado con *Trichinella spiralis*”**, a través de la Dirección General de Investigación y Posgrado de la **Universidad Autónoma de Aguascalientes**, en la **Mesa de Ciencias Biomédicas**, junio del 2015.
4. **PRIMER LUGAR** en el Concurso de Carteles Científicos en el IV Simposio Nacional de Ciencias Químico Biológicas, con el trabajo científico titulado **“Evaluación del papel inmunomodulador de la resiniferatoxina durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal de un modelo murino infectado con *Trichinella spiralis*”**, a través del **Consejo Zacatecano de Ciencia, Tecnología e Innovación (COZCyT)**, y del Cuerpo Académico de Fisiopatología Celular y Molecular de la **Universidad Autónoma de Zacatecas**, los días 19 al 21 de octubre del 2016.
5. Participación como **Jurado del Concurso de carteles en el IV Simposio Nacional de Ciencias Químico-Biológicas** a través del **Consejo Zacatecano de Ciencia, Tecnología e Innovación (COZCyT)**, y del Cuerpo Académico de Fisiopatología Celular y Molecular de la **Universidad Autónoma de Zacatecas**, los días 19 al 21 de octubre del 2016.

17.5. Estancias Nacionales de Investigación durante el Doctorado.

- 1. Estancia Nacional de Investigación por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** en el Laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la Universidad Autónoma de Zacatecas, del 01 de julio al 31 de diciembre del 2015. Carta de aceptación por CONACYT.
- 2. Estancia Nacional de Investigación por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** en el Laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la Universidad Autónoma de Zacatecas, del 01 de junio al 30 de noviembre del 2016. Carta de aceptación por CONACYT.

17.6. Cursos Nacionales e Internacionales y Diplomados durante el Doctorado.

- 1. Realización del Curso Nacional Básico de Inmunología** a través de la **Sociedad Mexicana de Inmunología** en el **Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)** Oaxtepec, Morelos del 25 al 27 de enero del 2016 en la Ciudad de México.
- 2. Realización del Curso Nacional Avanzado de Inmunología** a través de la **Sociedad Mexicana de Inmunología** en la **Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)** del 25 al 27 de noviembre del 2015 en la Ciudad de México.
- 3. Realización del Curso Internacional Enfermedades Parasitarias Transmitidas por Alimentos** desarrollado del 1 de octubre al 10 de noviembre del 2015, a través de **WINER LAB**. Aprobado con 95.24.
- 4. Realización del Curso Internacional Tópicos de Parasitología: Parásitos del Tracto Gastrointestinal Humano** desarrollado del 1 de agosto al 10 de septiembre del 2015, a través de **WINER LAB**. Aprobado con 84.17. Certificado.
- 5. Asistencia al Curso Nacional “Actualidades en Microbiología”** en la **CIII Reunión de la Asociación Mexicana de Profesores de Microbiología y Parasitología “Dr. Manuel Gutiérrez Quiroz”** y **XIV Congreso nacional de Estudiantes**, del 26 al 28 de marzo del 2015 en la **Universidad Autónoma de Aguascalientes**.

6. Realización del **Curso Internacional Enfermedades Parasitarias Transmitidas por Alimentos** desarrollado del 1 de agosto al 10 de septiembre del 2014, a través de **WINER LAB**. Aprobado con 90.48.
7. Acreditación del **IV Curso Internacional de Inmunidad innata contra Patógenos – Modulo Teórico** del 1 al 6 de septiembre del 2014, por la **Universidad Autónoma de Aguascalientes** y el **Instituto Pasteur de Francia**.
8. Acreditación del **IV Curso Internacional de Inmunidad innata contra Patógenos – Modulo Práctico: Análisis de células y moléculas en el proceso inflamatorio agudo en el sitio de la infección**, del 8 al 12 de septiembre del 2014, por la **Universidad Autónoma de Aguascalientes** y el **Instituto Pasteur de Francia**.
9. Realización del **Curso Nacional “Diagnóstico Molecular de Agentes Infecciosos de Transmisión Sexual en Tiempo Real”** impartido en el marco de la Escuela de Verano UAZ-SPAUAZ 2014 de la **Universidad Autónoma de Zacatecas**, del 17 de junio al 5 de julio.
10. Diplomado en **“Cultura Ambiental y Desarrollo Sostenible”** realizado del 21 de marzo al 4 de julio del 2014, por la Coordinación de Vinculación de la Universidad Autónoma de Zacatecas, con la Tesina titulada **“Residuos peligrosos en el área de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y Zacatecas”**. Tesina y Diploma.

17.7. Participación y Asistencia en Congresos Nacionales e Internacionales.

1. Ponencia Oral: **Resiniferatoxin modulates the Th1 immune response and protects the host during intestinal nematode infection**, en el marco del **8vo Congreso Internacional la Investigación en el Posgrado**, a través de la Dirección General de Investigación y Posgrado de la **Universidad Autónoma de Aguascalientes**. Octubre 2017.
2. Ponencia Oral: **Resiniferatoxin promotes worm expulsion in *T. spiralis*-infected rats by Th2-modulation cytokines**, en el marco del **8vo Congreso Internacional la Investigación en el Posgrado**, a través de la Dirección General

de Investigación y Posgrado de la **Universidad Autónoma de Aguascalientes**.
Octubre 2017.

3. Participación con la **Poster Científico** titulado **“Evaluation of the immunomodulatory role of resiniferatoxin during the primary immune response at the intestinal level of a murine model infected with *Trichinella spiralis*”** presentando en el **BIT’S 15TH Annual Congress of International Drug Discovery Science and Technology-2017-JAPAN**, del 25 al 27 de julio del 2017, en Osaka, Japón.
4. Participación con la **Poster Científico** titulado **“Evaluation of the immunomodulatory role of resiniferatoxin during the primary immune response at the intestinal level of a murine model infected with *Trichinella spiralis*”** presentado en el **BIT’s Annual World Congress of Molecular and Cell Biology-2017-CHINA**, del 25 al 27 de abril del 2017, en Xi’an, China.
5. Participación como **Ponente** en la conferencia **“Resiniferatoxina: un nuevo fármaco potencial para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias”** como parte de las actividades del **III Simposium Internacional de Ingeniería Bioquímica en el marco de la Universidad Internacional de Verano 2017 de la Universidad de Guadalajara**, el día 30 de mayo del 2017.
6. Participación en la **1ra Jornada de Investigación en Ciencias Biológicas** con la **Ponencia** titulada **“Evaluación del papel inmunomodulador de la resiniferatoxina durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal de un modelo murino infectado con *Trichinella spiralis*”** a través del Laboratorio de Bioquímica Molecular e Inmunología de la **Universidad Autónoma de Zacatecas**, los días 1 y 2 de diciembre del 2016.
7. Participación con el **Trabajo de Investigación en modalidad cartel** titulado **“Resiniferatoxina: promueve la expulsión de parásitos adultos en ratas infectadas con *Trichinella spiralis* y reduce la infectividad de L1 de *Trichinella spiralis* en ratones BALB/c”**, durante el **2do Congreso Nacional de Investigaciones Microbiológicas**, llevado a cabo del 7 al 9 de noviembre del 2016 en la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en Puebla**, Puebla, México.

8. Participación al **IV Simposio Nacional de Ciencias Químico-Biológicas** con el **Cartel Científico** titulado “**Evaluación del papel inmunomodulador de la resiniferatoxina durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal de un modelo murino infectado con *Trichinella spiralis***” del 19 al 21 de octubre del 2016.
9. Participación en la **Modalidad Cartel**, titulado “**Evaluación del papel inmunomodulador de la resiniferatoxina durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal de un modelo murino infectado con *Trichinella spiralis***” en la mesa de **Ciencias Biomédicas**, en el **7mo Congreso Internacional “La Investigación en el Posgrado”** a través de la **Universidad Autónoma de Aguascalientes** y el **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, los días 12, 13 y 14 de octubre del 2016.
10. Participación y Asistencia en el **XXII Congreso Nacional de Inmunología**, celebrado del 19 al 23 de abril 2016, en Zacatecas, Zacatecas.
11. Participación como **Ponente en la Modalidad Cartel Científico** en la mesa de **Ciencias Biomédicas** con el Trabajo titulado “**Evaluación del papel inmunomodulador de la resiniferatoxina durante la respuesta inmune primaria a nivel intestinal de un modelo murino infectado con *Trichinella spiralis***” a través de la Dirección general de Investigación y Posgrado de la **Universidad Autónoma de Aguascalientes** en el marco del 16° Seminario de Investigación.
12. Asistencia y Participación en la **Exhibición de Carteles Científicos** con el trabajo “**Evaluation of the anti-inflammatory activity of resiniferatoxin in intestinal phase of *Trichinella spiralis* infection in a murine model**” durante la **4ta Expo Científica CTR 2015** que se llevó a cabo en el Centro de Convenciones “Cinia González Díez” los días 28 y 29 de mayo del 2015 en la Ciudad de México.
13. Asistencia al “**1er Congreso Nacional de Investigaciones Microbiológicas**” a través de la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla** en el marco del 26 al 28 de noviembre del 2014, Puebla, Puebla.

14. Asistencia y Participación en el **XXII Congreso Latinoamericano de Microbiología y 4 Congreso Colombiano de Microbiología en Cartagena, Colombia**, del 5 al 8 del 2014.
 15. Participación con el **Trabajo libre modalidad Ponencia** titulado “**La Trichinellosis como Enfermedad Parasitaria Transmitida por Alimentos**”, en el marco del **II Simposio Internacional de Cultura Ambiental y Desarrollo Sostenible**”, los días 8, 9 y 10 de octubre del 2014.
 16. Participación con el **Trabajo libre modalidad Ponencia** titulado “**Residuos peligrosos en el Área de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y Zacatecas**”, en el marco del **II Simposio Internacional de Cultura Ambiental y Desarrollo Sostenible**”, del 8 al 10 de octubre del 2014.
- 17.8. Experiencia Profesional y Gestión Académica.**
- I. Miembro Numerario de la Sociedad Mexicana de Inmunología.**
 - II. Presidente del Comité de Bioética y Responsable de Investigación** de la Facultad de Odontología de la Escuela de Ciencias Biomédicas de la **Universidad Cuauhtémoc Plantel Aguascalientes**, de Diciembre del 2017 a la fecha.
 - III. Presidente de la Académica de Herramientas Auxiliares** de la Facultad de Odontología de la Escuela de Ciencias Biomédicas de la **Universidad Cuauhtémoc Plantel Aguascalientes**. 2017.
 - IV. Vocal del Comité de Investigación de la Escuela de Medicina de la Universidad Autónoma de Durango Campus Zacatecas**. 2016-2017.
 - V. Docente de la Universidad Cuauhtémoc Plantel Aguascalientes** desde enero del 2015 a la fecha, impartiendo las materias: **Inmunología y Bioquímica** en el **posgrado de Especialidad en Endodoncia**; y las materias de **Técnicas de Comunicación e Investigación y Seminario de Investigación** en la **Licenciatura de Odontología**; y la materia de **Metodología de la Investigación** en el **posgrado de la Especialidad en Ortodoncia**.
 - VI. Docente de la Universidad Autónoma de Durango Campus Zacatecas**. Agosto 2015-octubre 2017, en la **Licenciatura de Medicina General**. impartiendo las materias: **Genética Médica, Parasitología Médica, y Farmacología**.

VII. Docente y Ponente Nacional en el Diplomado en Cosmiatría del Tecnológico ASPIDPRO® avalado por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) impartiendo los módulos de Química Cosmética, Producción Cosmética, Melanogénesis, Clínico-patología del Acné, Embriología de la Piel, de 2011 a la fecha (año 2017).